

Universidade de Lisboa

Faculdade de Medicina de Lisboa



**Peptídeo natriurético cerebral como possível marcador de
acidente vascular cerebral isquémico de etiologia
cardioembólica**

Ana Catarina Gaspar Fonseca

Mestrado em Neurociências

2009

A Impressão desta dissertação foi aprovada pela Comissão Coordenadora do Conselho Científico da Faculdade de Medicina de Lisboa em reunião de 2 de Junho de 2009

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina de Lisboa



**Peptídeo natriurético cerebral como possível marcador de
acidente vascular cerebral isquémico de etiologia
cardioembólica**

Ana Catarina Gaspar Fonseca

Mestrado em Neurociências

Dissertação orientada pelo Professor Doutor José Manuel Ferro

Todas as afirmações efectuadas no presente documento são da exclusiva responsabilidade do seu autor, não cabendo qualquer responsabilidade à Faculdade de Medicina de Lisboa pelos conteúdos nele apresentados

Agradecimentos

Agradeço a todos os que apoiaram a realização deste trabalho salientando:

- O Professor Doutor José Ferro, que aceitou ser o orientador da tese. Agradeço-lhe particularmente a oportunidade, a disponibilidade, as críticas, o interesse e o incentivo através do seu extraordinário exemplo;
- Os elementos da equipa da Unidade de Cérebro-Vasculares do Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria - Dr^a Teresa Pinho e Melo, Dr^a Patricia Canhão e Dr^a Filipa Falcão. Agradeço-lhes a disponibilidade, interesse e sugestões para a concretização do trabalho;
- O Dr. Joaquim Sampaio, do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Santa Maria, pela sua disponibilidade e colaboração;
- A Dr^a Luisa Albuquerque pela paciência e pelo incentivo;
- Os meus colegas Dr^a Liliana Gouveia, Dr^a Vânia Almeida, Dr^a. Anabela Valadas, Dr. Tiago Mestre, Dr^a Rita Peralta e Dr^a Ruth Geraldés pela colaboração e sugestões;
- Os meus amigos e fantástica família

Índice

Agradecimentos	4
Índice	5
1. Resumo	7
1.1. Palavras-chave:	8
2. Abstract	9
2.1. Keywords:	10
3. Introdução.....	11
3.1. Etiologia cardioembólica	13
3.2. Fibrilhação auricular.....	16
3.3. Detecção de fibrilhação auricular	19
3.4. Biomarcadores.....	21
3.5. BNP e NT-proBNP	25
3.6. BNP na doença cerebrovascular	31
3.6.1. BNP no contexto de Hemorragia Subaracnoideia	31
3.6.2. BNP no contexto de AVC isquémico	32
4. Hipótese	42
5. Objectivos.....	43
5.1. Objectivo primário	43
5.2. Objectivos secundários	43
6. Material e Métodos	45
6.1. Local de estudo.....	45

6.2.	Seleção da Amostra	45
6.3.	Desenho do Estudo.....	47
6.4.	Colheita e determinação de NT-proBNP	49
6.5.	Neuroimagem	51
6.6.	Avaliação de parâmetros vitais	52
6.7.	Investigação e classificação etiológica dos AVCs isquémicos.....	53
6.8.	Investigação dos doentes com AVC hemorrágico	57
6.9.	Comissão de Ética	57
6.10.	Análise estatística.....	59
7.	Resultados.....	63
7.1.	Seleção da amostra	63
7.2.	Características demográficas.....	64
7.3.	NT-proBNP	70
7.4.	Comparação dos valores de NT-proBNP	72
7.5.	Determinação de curvas ROC	77
7.6.	Avaliação da associação entre os valores de NT-proBNP e a topografia do AVC	81
7.7.	Avaliação da associação entre os valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, frequência cardíaca média e valores séricos de NT-proBNP	82
7.8.	Extensão do AVC (Escala ASPECTS) e valores de NT-proBNP	82
7.9.	Características ecocardiográficas	82
8.	Discussão	84
9.	Conclusão.....	94
10.	Referências bibliográficas.....	95

1. Resumo

Introdução – O N-terminal do pró-peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP), que é principalmente produzido no coração, está elevado durante a fase aguda do AVC.

Objectivo – Determinar se o NT-proBNP poderia ser um biomarcador de AVC isquémico de etiologia cardioembólica.

Metodologia – Amostra consecutiva de doentes com AVC (isquémico e hemorrágico intracerebral), admitidos numa Unidade de AVC ao longo de 10 meses. Os AVC isquémicos foram divididos etiologicamente segundo a classificação TOAST. Foram excluídos doentes com patologia cardíaca isquémica ou valvular, insuficiência cardíaca e insuficiência renal. A colheita de sangue para determinação de NT-proBNP foi realizada nas primeiras 72 horas após início do AVC. A concentração sérica de NT-proBNP foi determinada por imunoensaio. Através do teste t-student, compararam-se as médias dos valores de NT-proBNP no grupo de doentes com AVC hemorrágico vs AVC isquémico, AVC cardioembólico vs AVC não-cardioembólico, AVC cardioembólico com fibrilhação auricular (FA) vs AVC não-cardioembólico. Determinaram-se curvas “receiver operating characteristic” (ROC) para definir a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC cardioembólico.

Resultados – Foram incluídos 92 doentes (66 AVC isquémico, 28 cardioembólicos), com uma média de idade de $58,6 \pm 14,4$ anos. A média do valor de NT-proBNP nos doentes com AVC isquémico de etiologia cardioembólica foi significativamente superior ($p < 0,001$) ($491,6$; IC 95% $283,7-852,0$ pg/mL) à dos doentes com AVC isquémico não-cardioembólico ($124,7$; $86,3-180,2$ pg/mL). Para determinação de

AVC de etiologia cardioembólica, obteve-se um valor de área abaixo da curva (AUC) de $0,77 \pm 0,06$. O ponto de corte com a maior especificidade e sensibilidade foi estabelecido em 265,50 pg/mL (71,4% e 74% respectivamente). Para determinação de AVC de etiologia cardioembólica com FA obteve-se uma AUC de $0,92 \pm 0,03$. O valor de NT-proBNP estabelecido como ponto de corte foi 265,50 pg/mL (sensibilidade 94,4%, especificidade 72,9%).

Conclusão – O NT-proBNP é um biomarcador com uma capacidade muito boa para diagnosticar AVC isquêmico de etiologia cardioembólica, nomeadamente relacionado com fibrilhação auricular.

1.1. Palavras-chave:

Peptídeo natriurético cerebral, NT-proBNP, AVC cardioembólico, biomarcador

2. Abstract

Background– Biomarkers may be important tools in stroke care. N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), which is mainly produced by the heart, is known to be increased in acute stroke.

We aimed to determine if NT-proBNP could be used as a serum biomarker for ischemic stroke of atrial cardioembolic etiology.

Methods- Sample: consecutive acute stroke patients (ischemic and intracerebral hemorrhages) admitted over 10 months to a Stroke Unit. Ischemic stroke was classified according to TOAST classification. Patients with heart failure, coronary disease, valve disease and renal failure (causes of NT-proBNP increase) were excluded. Blood samples were drawn within 72 hours after stroke onset. Serum NT-proBNP concentration was measured using an electrochemiluminescence immunoassay. T-test was used to compare the mean values of NT-proBNP between groups of patients with hemorrhagic stroke vs ischemic stroke, cardioembolic stroke vs noncardioembolic ischemic stroke, cardioembolic stroke related to atrial fibrillation (AF) vs noncardioembolic ischemic stroke. Receiver operating characteristic curves were used to test the ability of NT-proBNP to identify cardioembolic stroke.

Results- 92 patients were included (66 ischemic stroke) with a mean age of 58,6+/- 14,4 years. 28 (42,4%) ischemic strokes had a cardioembolic etiology. The mean of NT-proBNP values for cardioembolic stroke was significantly higher ($p < 0,001$) (491,6; 95% CI 283,7-852,0 pg/mL) than for noncardioembolic ischemic stroke (124,7; 86,3-180,2 pg/mL). The area under the curve (AUC) for NT-proBNP in cardioembolic

stroke was $0,77 \pm 0,06$. The cut-off point with the highest sensibility and specificity was set at 265,5 pg/mL (71,4% and 73,7% respectively). The AUC of NT-proBNP for cardioembolic stroke related to AF was $0,92 \pm 0,03$, cut-off was set at 265,5 pg/mL (sensibility 94,4%, specificity 72,9%).

Conclusion-NT-proBNP is a biomarker with a very good accuracy to predict cardioembolic stroke, namely those related to atrial fibrillation.

2.1. Keywords:

Brain natriuretic peptide, NT-proBNP, cardioembolic stroke, biomarker

3. Introdução

O Acidente Vascular Cerebral (AVC) é definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como “desenvolvimento rápido de sinais clínicos de alteração focal, e por vezes global da função cerebral, com duração superior a de 24 horas ou levando à morte, sem outra causa aparente que a de uma origem vascular” ¹¹².

O AVC é a terceira causa de morte nos países desenvolvidos e a principal causa de morbilidade a longo prazo. De acordo com a OMS, 15 milhões de pessoas em todo o globo sofrem um AVC em cada ano. Destes, 5 milhões de pessoas morrem e outros 5 milhões ficam permanentemente incapacitados ². O AVC tem um grande impacto económico, constituindo os custos relacionados com esta patologia 3 a 4% dos orçamentos anuais para a saúde em alguns países ³⁸.

O aumento da longevidade nos países desenvolvidos irá conduzir a um envelhecimento da população, que resultará presumivelmente num aumento da incidência e prevalência da patologia cerebrovascular. Deverão assim ser concentrados recursos para melhorar a prevenção primária, prevenção secundária e investigação de novas terapêuticas para o AVC.

Do ponto de vista anatomopatológico e fisiopatológico, os acidentes vasculares cerebrais são divididos em dois grupos: isquémicos e hemorrágicos. Cerca de 80% dos AVC são isquémicos e 20% hemorrágicos. O AVC hemorrágico está relacionado com a ruptura de um vaso, o AVC isquémico com a interrupção de aporte de sangue a uma região cerebral após oclusão trombótica ou embólica de um vaso.

O AVC isquémico é uma patologia etiologicamente heterogênea onde se enquadram causas extremamente distintas. Utiliza-se preferencialmente uma divisão etiológica dos AVC isquémicos em cinco grupos ¹:

- a) cardioembólica, relacionada com uma patologia cardíaca de potencial embólico;
- b) doença de grandes vasos, quando existe estenose ateromatosa de um grande vaso intra ou extracraniano,
- c) doença de pequenos vasos, referida quando se atribui o AVC a oclusão de uma artéria perfurante,
- d) outra causa determinada, um grupo que abrange etiologias como dissecação, vasculite, síndrome de hiperviscosidade, síndrome de anticorpos antifosfolipídicos entre outros,
- e) indeterminada, quando após o término da investigação diagnóstica não é possível estabelecer uma etiologia ou quando mais que uma etiologia pode ser atribuída.

Após o diagnóstico de um AVC, deverá ser realizada uma investigação etiológica tão completa quanto possível de forma a identificar uma etiologia específica. A identificação da etiologia específica de um AVC isquémico tem importantes implicações clínicas em termos de prognóstico, tem um impacto substancial na atribuição de um risco de recorrência e altera a orientação a curto prazo e instituição de terapêutica de prevenção secundária.

Em termos de terapêutica de prevenção secundária é particularmente importante a identificação de uma etiologia cardioembólica, especialmente relacionada com fibrilhação auricular.

3.1. Etiologia cardioembólica

Atribui-se uma etiologia cardioembolica quando o embolo que causa a oclusão de um vaso cerebral tem uma origem cardíaca ou quando ocorre a passagem de material embólico proveniente do sistema venoso através do coração (embolismo paradoxal). Uma etiologia cardioembólica é atribuída em aproximadamente 20 a 30% dos doentes com AVC isquémico ⁸². Têm vindo a aumentar substancialmente ao longo do tempo, com o evoluir dos métodos de imagem, o número de alterações cardíacas a que se atribui um potencial embólico.

As patologias cardíacas que podem originar embolismo cerebral podem-se sistematizar em sete grupos ¹²:

- a) arritmias, especialmente fibrilhação auricular (FA), flutter auricular e doença do nódulo sinusal.
- b) doenças cardíacas valvulares, incluindo estenose mitral, válvulas cardíacas protéticas, endocardite infecciosa e endocardite marântica,
- c) alterações do miocárdio ventricular conduzindo a dilatação ventricular, podendo ser desencadeadas por doença cardíaca isquémica ou miocardite,
- d) massas intracardíacas, tais como trombos ou massas tumorais, nomeadamente mixomas,
- e) “shunts” intracardíacos, especialmente foramen oval patente e defeitos do septo interauricular, conduzindo a um mecanismo de embolismo paradoxal
- f) lesões auriculares como dilatação auricular,

g) lesões aórticas, nomeadamente placas ateromatosas aórticas.

O potencial embólico das situações descritas não é igual e a classificação “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment” (TOAST) divide estas potenciais fontes embólicas em dois grupos consoante a evidência da sua propensão relativa para embolizar em fonte de alto risco ou fonte de médio risco (Tabela 1)¹.

<i>Alto risco</i>	<i>Médio risco</i>
<ul style="list-style-type: none">- Prótese valvular mecânica- Estenose mitral com fibrilhação auricular- Fibrilhação auricular (não isolada)- Trombo auricular ou no apêndice auricular esquerdo- Doença do nódulo sinusal- Enfarte do miocárdio recente (< 4 semanas)- Trombo ventricular esquerdo- Cardiomiopatia dilatada- Segmento ventricular esquerdo acinético- Mixoma auricular- Endocardite infecciosa- Trombo ventricular esquerdo	<ul style="list-style-type: none">- Calcificação do anel mitral- Estenose mitral sem fibrilhação auricular- Prolapso da válvula mitral- Estase na aurícula esquerda- Aneurisma do septo interauricular- Foramen oval patente (FOP)- Flutter auricular- Fibrilhação auricular isolada- Prótese valvular cardíaca biológica- Endocardite trombótica não bacteriana- Insuficiência cardíaca congestiva- Segmento ventricular esquerdo hipocinético- Enfarte do miocárdio (> 4 semanas, < 6 meses)

Tabela 1 - Fontes de alto e médio risco cardioembólico, segundo a classificação TOAST

Existem características clínicas que podem sugerir uma etiologia cardioembólica, tais como a presença de uma manobra de Valsalva a preceder a instalação de um

AVC cardioembólico, sugerindo um embolismo paradoxal, a presença de um déficit neurológico máximo desde o início do AVC, uma regressão rápida de sintomas ou uma afasia de Wernicke isolada. Imagiologicamente, a presença de lesões isquémicas simultâneas em mais do que um território vascular, enfartes em múltiplos níveis na circulação posterior ou uma transformação hemorrágica de um enfarte isquémico ²⁷. Contudo, a utilidade prática destes dados, para o diagnóstico de uma etiologia cardioembólica, é questionável ⁷⁵.

Os principais meios complementares de diagnóstico utilizados para investigação de uma etiologia cardioembólica incluem o electrocardiograma (ECG), o registo de Holter e o ecocardiograma transtorácico ou transesofágico.

O ecocardiograma transtorácico é o principal exame de imagem cardíaco não invasivo e é utilizado muitas vezes como um teste de rastreio. É escolhido preferencialmente em relação ao ecocardiograma transesofágico, particularmente em doentes com mais de 45 anos. É superior em relação ao ecocardiograma transesofágico para estudar a função sistólica regional do ventrículo esquerdo e para pesquisar trombos apicais do ventrículo esquerdo ⁸⁷. Na ausência de evidência de doença cardíaca, a probabilidade de detectar uma fonte embólica é inferior a 5% ¹¹¹.

O ecocardiograma transesofágico é um exame invasivo que dá uma melhor informação anatómica em relação à crossa da aorta, à aurícula esquerda, apêndice auricular esquerdo, válvula mitral e válvula aórtica ¹⁰⁸. Tal como em relação ao ecocardiograma transtorácico, a probabilidade de descoberta de uma fonte embólica é superior nos indivíduos com evidência de patologia cardíaca ⁹¹. Na maior parte dos casos é identificado através do ecocardiograma transesofágico um FOP (15-39%) ou um placa aórtica (18-30%), patologias nas quais existe incerteza acerca de qual a

melhor terapêutica a adoptar ²¹. Geralmente é realizado em doentes jovens com AVC sem causa identificada.

O papel da Tomografia computadorizada cardíaca e da Imagem de Ressonância Magnética cardíaca na detecção de fontes embólicas em doentes com AVC não foi avaliado de forma sistemática.

De entre todas as possíveis fontes cardioembólicas, actualmente considera-se que a causa mais comum, nos países desenvolvidos, é a fibrilhação auricular não-reumática ⁸².

3.2. Fibrilhação auricular

A fibrilhação auricular é uma arritmia supraventricular caracterizada por uma activação desorganizada da actividade eléctrica auricular, tendo como consequência uma contracção auricular ineficiente ⁶². A diminuição da contracção auricular conduz a estase sanguínea e consequente formação de trombos. Virchow, em 1856, descreveu três requisitos para a formação de trombos: estase de sangue, lesão da superfície endotelial e aumento da coaguabilidade. Em zonas de estase, um baixo fluxo laminar e outros factores activam a cascata clássica da coagulação, conduzindo à formação de trombos. Nos doentes com fibrilhação auricular sem patologia valvular, esta estase ocorre essencialmente nos apêndices auriculares. Foi também sugerido que nos doentes com FA existe um aumento da activação

plaquetária e da activação da trombina, que poderiam contribuir para um estado de hipercoaguabilidade nestes doentes ⁷².

A FA tem uma prevalência estimada de 0,4 a 1% na população em geral, aumentado com a idade. Aproximadamente 70% dos doentes com FA têm entre 65 e 85 anos ⁷⁹. Esta arritmia é um forte factor de risco para AVC e incontornavelmente um dos achados mais importantes na investigação cardiológica de doentes com AVC isquémico. Estima-se que a presença de fibrilhação auricular aumente em 5 vezes o risco de AVC comparativamente a indivíduos com ritmo sinusal ⁸⁰. No estudo ATHENA, a manutenção de um ritmo sinusal após FA, através da terapêutica com dronedarona, associou-se a uma diminuição da hospitalização por causas cardiovasculares, na qual se inclui a admissão por AVC ou AIT ³⁷. Não existe evidência que a conversão a um ritmo sinusal seguida de farmacoterapia para tentar manter este ritmo seja superior ao controlo da frequência da FA em termos de mortalidade por AVC ³⁵. Os AVCs relacionados com fibrilhação auricular são geralmente graves, com uma mortalidade estimada ao 1º ano de 50%, têm uma elevada recorrência ⁵⁶ e resultam em morbilidade, mortalidade e custos significativos ⁶².

Relativamente ao padrão temporal, a FA classifica-se como recorrente após a ocorrência de 2 ou mais episódios. Se a FA terminar espontaneamente em menos de 7 dias é designada de paroxística. Quando tem uma duração superior a 7 dias, terminando espontaneamente ou de forma induzida é classificada como persistente. Quando a FA permanece, tendo sido tentada ou não realização de cardioversão, é designada de permanente ⁶². Uma FA paroxística tem um risco semelhante a uma FA persistente de desencadear um AVC ⁸⁵.

Anteriormente, a principal causa subjacente à fibrilhação aurícula era a febre reumática, utilizando-se nestes casos a expressão fibrilhação auricular reumática para a caracterizar. Actualmente, devido a diminuição na incidência de febre reumática, entre as principais causas subjacentes a FA encontram-se a doença coronária isquémica, hipertensiva, insuficiência cardíaca e diabetes. Estes casos designam-se actualmente de fibrilhação auricular não-reumática ou não-valvular ⁶².

Apesar de estar frequentemente associada a doença cardíaca estrutural, cerca de 45% dos doentes com FA paroxística e 25% dos doentes com FA persistente não têm doença cardíaca detectável ⁶². Entre as alterações ecocardiográficas que sugerem risco particular de embolismo em doentes com FA incluem-se: aumento do diâmetro da aurícula esquerda, diminuição da velocidade de fluxo do apêndice auricular esquerdo, calcificação do anel mitral e disfunção ventricular esquerda ⁹⁸. 13% dos doentes com FA não-reumática têm trombos detectáveis por ecocardiograma transesofágico ²⁰. É incerto se estes doentes têm definitivamente um maior risco de AVC relativamente aos doentes sem trombo detectável ⁹².

A maior parte dos doentes com AVC isquémico recebe como terapêutica de prevenção secundária, terapêutica antiagregante, incluindo os doentes com etiologia indeterminada. Foi porém demonstrado que a anticoagulação oral (INR 2.0 – 3.0) comparativamente com a terapêutica antiagregante reduz o risco de AVC recorrente em doentes com FA não-valvular (quer seja permanente, crónica ou paroxística) ²⁴ e poderá estar associada a menor gravidade do AVC se este recorrer ⁶⁷. A anticoagulação oral (INR 2,0-3,0) após AVC isquémico em doentes com FA é assim recomendada pela European Stroke Organization com evidência Classe I, Nível A ²⁶.

3.3. Detecção de fibrilhação auricular

Tendo em conta o papel da FA na etiologia do AVC e a importância da sua detecção para iniciar uma prevenção secundária diferenciada, todos os doentes com AVC isquémico realizam pelo menos um electrocardiograma (ECG) durante a investigação etiológica do AVC. Nos doentes em que a investigação etiológica foi negativa e permanece a suspeita de uma etiologia cardioembólica é recomendada a monitorização com Holter de 24 horas ²⁶.

Contudo, os estudos realizados sugerem uma baixa capacidade destes exames para detectarem FA paroxística. Apesar da monitorização com Holter ser superior à realização do ECG de rotina, numa revisão sistemática a capacidade da monitorização por Holter (24-72 horas) para detectar FA paroxística foi de 4,6% ⁵¹. Dada a baixa sensibilidade deste exame, existe alguma controvérsia relativamente à sua utilidade clínica, tendo sido questionada a sua utilização por rotina ⁸⁶. Foi demonstrado que monitorizações mais prolongadas (registo prolongado de eventos de 4-7 dias) detectaram fibrilhação auricular de novo em mais 6 a 8% de doentes após um Holter não diagnóstico⁴¹. A utilização de registos prolongados de eventos com duração de 7 dias, aos 0, 3 e 6 meses após um AVC, detectou FA em 14% de doentes com Holter inicialmente negativo ⁵¹. Contudo, para que o evento seja registado nestes dispositivos é necessária a colaboração do doente que inicia o registo quando sente palpitações, não sendo assim registados os períodos de FA assintomáticos. Um dispositivo de telemetria cardíaca móvel ambulatória detectou num período de 21 dias, FA em 23% dos doentes com AVC ou Acidente Isquémico Transitório (AIT) criptogénico ⁹⁷. Um estudo sugeriu a realização de uma

monitorização de ECG prolongada em doentes que tivessem extrassístoles frequentes (>70/24h) no Holter inicial, uma vez que nestes doentes poderia ser maior a probabilidade de ser detectada uma FA ¹⁰⁵.

Não está actualmente demonstrado o valor prognóstico para AVC de estudos electrofisiológicos que medem o período refractário auricular e os tempos de condução para definir um índice de vulnerabilidade da aurícula para fibrilhar (vulnerabilidade auricular latente). No estudo epidemiológico ISAV, a presença de vulnerabilidade auricular em doentes com AVC criptogénico não se correlacionou com a ocorrência de eventos como novo AVC ou arritmia auricular ⁹⁰.

Considerando que na presença de uma fibrilhação auricular, permanente ou paroxística, os doentes estão em elevado risco de sofrer um AVC recorrente e a anticoagulação oral é significativamente mais eficaz na prevenção de AVC cardioembólico associado a FA que a terapêutica profilática com antiagregantes, é necessário que se tentem identificar métodos mais eficazes de detectar FA.

Actualmente, cerca de um terço dos AVCs isquémicos são classificados como etiologia indeterminada. É possível que uma proporção substancial destes AVCs, denominados de criptogénicos, seja consequência de um FA paroxística não diagnosticada ^{28,81}.

A importância de uma correcta identificação de um AVC como cardioembólico conduziu à hipótese de utilização de biomarcadores para o seu diagnóstico.

3.4. Biomarcadores

A análise de proteínas nos líquidos biológicos tem sido utilizada desde há vários anos para o diagnóstico e monitorização de doenças. Primeiro foi utilizada a quantificação de proteínas totais, posteriormente a separação de proteínas por electroforese e ultimamente a quantificação de proteínas específicas através de imunoensaios ³³. São estas proteínas específicas que têm vindo a ser utilizadas de forma crescente como marcadores biológicos.

O termo biomarcador foi primeiro introduzido em 1989 no Medical Subject Heading (MeSH) como “parâmetro biológico mensurável e quantificável, que serve como indicador de variações fisiológicas ou de saúde tais como risco de uma doença, perturbação psiquiátrica, exposição ambiental e seus efeitos, diagnóstico de uma doença, processo metabólico, estudo epidemiológico. ” Em 2001, foi reunido um grupo de trabalho do “National Institute of Health”, o “Biomarkers Definition Working Group” que definiu biomarcador como “uma característica mensurável e que avalia objectivamente como indicador de processos biológicos normais, processos patológicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica” ⁸.

Em 2008, a definição anterior de biomarcador foi revista e passou a ser definida como “uma característica molecular, biológica ou física que indica um estado fisiológico específico. É objectivamente mensurável e pode ser utilizado na prática clínica para identificar o risco para uma doença, para diagnosticar uma doença e a sua gravidade, para guiar estratégias de intervenção ou para monitorizar a resposta de doentes a terapêuticas” ⁴.

Os biomarcadores têm sido reconhecidos como ferramentas diagnósticas importantes. Idealmente, um biomarcador deveria ser altamente sensível, específico, acessível, padronizado, custo-efectivo e fácil de interpretar por um clínico ⁵⁵.

Ultimamente, tem sido investigada de forma crescente a possibilidade de utilização de biomarcadores na doença cerebrovascular para¹³:

- a) Diagnóstico de AVC isquémico;
- b) Identificação de fases do AVC isquémico (como marcadores de lesão isquémica definitiva ou de tecido potencialmente recuperável, correspondendo à penumbra);
- c) Estabelecimento de uma etiologia;
- d) Estabelecimento de prognóstico clínico (tanto da evolução espontânea como após a administração de terapêutica, particularmente relacionada com a trombólise).

Os biomarcadores actualmente em investigação para utilização na patologia cerebrovascular são ou específicos do SNC ou marcadores de inflamação sistémica, fibrinólise ou hemostase. Têm sido investigados biomarcadores derivados do sangue, líquido cefalo-raquidiano e tecido cerebral ³⁹. O ideal seria utilizar um biomarcador sérico ou plasmático, uma vez que seria facilmente acessível, a sua obtenção pouco invasiva e poderia ser eventualmente avaliado ao longo do tempo através de medições seriadas.

Existem dois grandes obstáculos à utilização de biomarcadores na patologia cerebrovascular:

a) a presença da barreira hematoencefálica que dificulta e atrasa a libertação de proteínas de origem neuronal ou glial para o sangue periférico após um AVC; é necessário que o biomarcador esteja presentemente precocemente e em concentrações suficientes no sangue periférico, para que possa ser utilizado num contexto agudo;

b) muitos dos potenciais marcadores séricos de isquémia cerebral e inflamação são pouco específicos e podem estar elevados noutras patologias que por vezes mimetizam um AVC, tal como um enfarte do miocárdio ou inflamação do Sistema nervoso central ¹⁰⁹.

Até ao momento foram estudados 58 possíveis biomarcadores sanguíneos e sete possíveis associações de vários biomarcadores. Contudo, nenhum pode ser actualmente recomendado para utilização na prática clínica.

Na tabela 2, encontram-se resumidas as características dos principais biomarcadores sanguíneos avaliados no contexto do AVC isquémico.

<i>Biomarcador</i>	<i>Características gerais</i>	<i>Resultado dos estudos</i>
DD	Produto de degradação da fibrina	fase aguda, subaguda e crónica do AVC isquémico AVC cardioembólico
PCR	Proteína de fase aguda	fase aguda Predictor de risco de eventos vasculares

S100	Proteína de ligação ao cálcio	fase aguda
	Sintetizado nos astrócitos	Associado a enfarte maligno da ACM e volume final do enfarte
MMP-9	Enzima proteolítica	fase aguda
	Envolvida na remodelação tecidual	associado a transformação hemorrágica e com o volume final de enfarte
MMP-13	Enzima proteolítica	Associado a aumento da lesão isquémica
Fibronectina celular	Componente da lâmina basal do endotélio	Associado a enfarte maligno da ACM e a transformação hemorrágica
Secretagogina	Proteína de ligação ao cálcio	fase aguda
	Marcador de morte neuronal	
Neurotrofina 3	Factor de sobrevivência neuronal	tem função protectora
BNGF	Factor neurotrófico	fase aguda
Caspase-3	Protease envolvida na apoptose	A activação da caspase 3 ocorre na isquémia cerebral permanente ou transitória
Factor de von Willebrand	Glicoproteína envolvida na hemostase	fase aguda

Tabela 2 – Resumo das características dos principais biomarcadores sanguíneos avaliados no contexto do AVC isquémico; DD- D-Dímeros, PCR- proteína C reactiva, ACM – Artéria Cerebral Média, MMP – metaloproteinase da matriz, BNGF – factor de crescimento neurotrófico tipo B, - aumento, - diminuição (adaptado de Montaner⁶¹ e Castellanos¹³)

De entre as várias substâncias que têm sido avaliadas como possíveis biomarcadores, na patologia cerebrovascular, encontra-se o peptídeo natriurético cerebral.

3.5. BNP e NT-proBNP

O peptídeo natriurético cerebral (BNP) é uma neurohormona que tem sido estudada e divulgada como uma hormona natriurética cardíaca. Contudo, estudos recentes sugerem que pode ter um papel importante na fisiopatologia do Acidente Vascular Cerebral Agudo.

O BNP faz parte de um grupo de peptídeos natriuréticos, filogeneticamente conservado ao longo da evolução, que inclui também o peptídeo natriurético atrial (ANP), o peptídeo natriurético tipo C, a urodilatina e o peptídeo natriurético *Dendroaspis*⁷⁸.

O BNP foi pela primeira vez isolado no tecido cerebral do porco, em 1988⁹³. Experiências subsequentes mostraram que tinha também uma produção cardíaca⁶⁰.

Considera-se que o principal local de produção de BNP no cérebro seja o hipotálamo, sendo também produzido no córtex cerebral, tálamo e protuberância. No rato, após a utilização de anticorpos anti-BNP foi demonstrada imunoreactividade nas fibras nervosas que enervam a artéria carótida interna e porção proximal das artérias cerebral anterior, média e artéria comunicante posterior. Foi assim sugerido

que o BNP poderia ser um neuromodulador vasodilatador na circulação cerebral ⁸³. Normalmente, o BNP não atravessa a barreira hemato-encefálica. Contudo, durante a isquemia cerebral, por compromisso da barreira hematoencefálica pode potencialmente atravessá-la ⁶¹.

Admite-se que o coração seja o principal local de produção do BNP. Aqui, o estímulo mais importante para a síntese e secreção de BNP é o estiramento dos miócitos, principalmente no contexto de sobrecarga cardíaca de volume ⁷⁴ ou de pressão ³⁶. Após o estiramento dos miócitos, existe uma activação rápida (no contexto de horas) do gene do BNP ³⁴. O BNP pode ser sintetizado pela aurícula ou pelo ventrículo ¹¹⁵. Em termos de expressão tecidual o BNP parece ser mais abundante nas aurículas que nos ventrículos, porém, devido à maior massa ventricular, 70% de todo o BNP deriva do ventrículo em condições normais ⁶³. Recentemente, foi demonstrado que os fibroblastos cardíacos também produzem BNP. A hipertrofia ventricular, fibrose e hipóxia do miocárdio podem estimular a produção de BNP ¹⁰⁶. Certas hormonas (catecolaminas, angiotensina II e endotelina-1) podem estimular a secreção de BNP através de mecanismos parácrinos ou endócrinos ⁵⁸. Outros locais identificados como produtores de BNP em menores quantidades incluem os pulmões, rim, aorta e glândulas adrenais ³⁰.

Quimicamente o BNP é um peptídeo inicialmente produzido como um prépropeptídeo de 134 aminoácidos, codificado por um gene com três exões e dois intrões, localizado no cromossoma 1p36.2. Este prépropeptídeo é clivado proteoliticamente num fragmento N-terminal não activo de 108 aminoácidos denominada proBNP. O proBNP quando secretado é dividido em duas fracções por duas enzimas proteolíticas, a furina ⁸⁴ e a corina ¹¹⁴ - o BNP biologicamente activo

(aa 77-108) e o N-terminal-proBNP (NT-proBNP) (aa 1-76), sem actividade biológica⁹⁴ (Figura 1).

É possível detectar na circulação sanguínea o BNP, NT-proBNP e proBNP⁴⁶. O NT-proBNP tem uma semi-vida superior ao BNP. A semi-vida do BNP é de aproximadamente 22 minutos, enquanto a do NT-proBNP é de 120 minutos¹⁰⁴. É devido ao facto da semi-vida do NT-proBNP ser superior à do BNP, que a maior parte dos ensaios disponíveis mede o NT-proBNP e não o BNP. Após a síntese do BNP, o armazenamento em grânulos é mínimo. Ele é principalmente sintetizado e secretado em “bursts”¹¹⁷.

Na sua estrutura, o BNP tem um anel de 17 aminoácidos formado entre dois resíduos de cisteína, através de uma ponte intramolecular de dissulfido que é essencial para a actividade biológica⁶⁵.

As acções biológicas do BNP são mediadas pelo receptor dos peptídeos natriuréticos tipo A (NPR-A), (receptor guanil ciclase). O NPR-A é um receptor transmembranar com aproximadamente 120 kD com uma estrutura composta por uma região extracelular de ligação ao BNP, um domínio quinase intracelular e um domínio guanil ciclase com actividade enzimática. O NPR-A encontra-se principalmente situado na membrana do endotélio dos vasos sanguíneos de grande calibre⁴⁹. A ligação ao receptor conduz à conversão do trifosfato de guanosina (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (cGMP)¹⁰⁰.

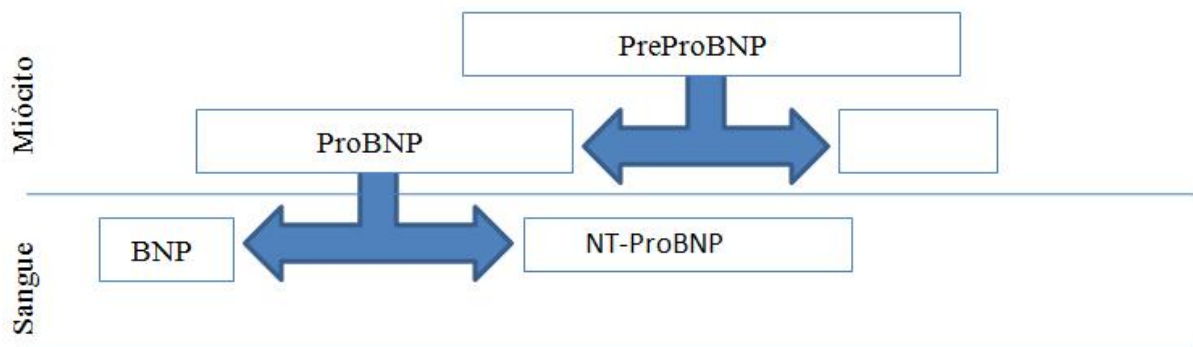


Figura 1- Produção e liberação de BNP

Uma proteína quinase dependente da cGMP (PKG ou cGK) é o principal mediador intracelular dos sinais da cGMP através da transferência catalítica do fosfato do ATP para um resíduo serina ou treonina da proteína alvo ⁴⁴. A transdução de sinal activada por estes receptores é terminada por uma fosfodiesterase cGMP que modula a concentração intracelular de cGMP e a duração e magnitude da resposta ¹⁷.

O BNP actua de uma forma endócrina desempenhando um papel importante na regulação da homeostase cardiovascular e controlo de volume. Os seus efeitos biológicos incluem natriurese, diurese, vasodilatação, inibição do eixo renina-angiotensina-aldosterona e sistema nervoso simpático ⁴⁷. A nível cardíaco tem propriedades lusitrópicas ¹¹³ e efeito antifibrótico ⁶⁸.

Mecanismos conhecidos da clearance do BNP incluem ligação ao receptor tipo C de clearance dos peptídeos natriuréticos e proteólise pela peptidase NEP 24.1, que abre a estrutura em anel e inactiva o peptídeo. Presume-se que o NT-proBNP seja

excluído da circulação por via renal, quer através de filtração directa, quer por excreção passiva ¹⁸.

Geralmente as concentrações plasmáticas de NT-proBNP e de BNP são aproximadamente iguais nos controlos normais, sendo detectáveis em concentrações picomolares (pg) no sangue venoso de indivíduos saudáveis. Contudo, nos doentes com insuficiência cardíaca a concentração de NT-proBNP é 2-10 vezes mais elevada que a de BNP. A razão para esta alteração na proporção é desconhecida. Os níveis séricos do NT-proBNP e BNP em indivíduos normais sem doença cardiovascular ou ventricular (sistólica ou diastólica) aumentam com a idade e são superiores nas mulheres ¹⁰⁷. Foram obtidos valores séricos de NT-proBNP compreendidos entre 0 e 35000. 90% dos indivíduos adultos jovens têm valores de NT-proBNP < 70 pg/ml ¹⁹. Nos indivíduos com dispneia aguda, foi sugerido o ponto de corte de NT-proBNP <300 pg/ml para despiste de insuficiência cardíaca congestiva ⁴².

Este peptídeo é actualmente utilizado como marcador de disfunção ventricular esquerda e de prognóstico em doentes com insuficiência cardíaca congestiva (ICC)^{23,5} e com síndromes coronárias agudas ⁷⁷.

Os níveis de BNP correlacionam-se directamente com a massa ventricular esquerda. Níveis plasmáticos elevados de NT-proBNP foram observados em doentes com insuficiência renal (para um ponto de corte de taxa de filtração glomerular inferior a 60 ml/min/1,73 m²) ¹⁰, anemia, embolia pulmonar aguda, hipertensão pulmonar, sepsis ⁷⁶, hipertireoidismo, regurgitação mitral ⁹⁵ e aórtica ³¹ e disritmias como fibrilhação auricular (FA).

Os níveis plasmáticos de NT-proBNP foram demonstrados estar elevados em doentes com fibrilhação auricular permanente ou paroxística, com função sistólica ventricular esquerda preservada, comparativamente a controlos ⁴⁸. Num estudo, observou-se que em cerca de 81% dos doentes com FA, os níveis plasmáticos de BNP aumentavam dentro de 4 horas após a ocorrência da arritmia ¹⁰¹. Verificou-se uma diminuição significativa dos níveis de NT-proBNP após a restauração do ritmo sinusal, por cardioversão eléctrica ⁶⁹. Os doentes com fibrilhação auricular paroxística isolada também parecem ter níveis elevados de NT-proBNP, na ausência de doença cardíaca estrutural ⁵⁰. O mecanismo fundamental para o aumento de BNP nos doentes com FA permanece desconhecido. No tecido auricular direito de murganhos, a estimulação alfa1-adrenérgica com fenilefrina induziu a expressão genética para o BNP. Contudo, é desconhecido se a estimulação alfa1-adrenérgica resulta num aumento da síntese de BNP em doentes com fibrilhação auricular ¹⁰. Um estudo realizado com tecido auricular direito humano mostrou que a FA persistente estava associada a maior expressão de mRNA para o proBNP, mas não foram encontradas alterações na expressão do gene para o proBNP em doentes com FA paroxística ¹⁰³.

Num estudo realizado em 2002 ⁸⁸, foi colocada a hipótese de a medição dos níveis de BNP poder ser útil para detectar doentes em risco de complicações tromboembólicas decorrentes de FA. Treze doentes com uma história pessoal de tromboembolismo ou com evidência ecocardiográfica de um trombo foram comparados com 21 doentes com FA sem estas complicações. No grupo com história de tromboembolismo foi encontrada uma maior alteração da velocidade de

fluxo do apêndice auricular esquerdo e níveis mais elevados de BNP que no grupo sem estas complicações, sendo esta diferença estatisticamente significativa.

3.6. BNP na doença cerebrovascular

Apesar de o BNP ter sido primariamente identificado no tecido cerebral ⁹³, a informação actual sobre este peptídeo natriurético na doença cerebrovascular é limitada. Existe evidência de um aumento do BNP e NT-proBNP no contexto específico de hemorragia subaracnoideia (HSA) e na fase aguda do AVC isquémico.

3.6.1. BNP no contexto de Hemorragia Subaracnoideia

Vários estudos sugerem que o BNP é responsável pela natriurese e hiponatrémia que ocorre após HSA ¹¹⁰. Foram documentados níveis séricos aumentados de BNP nos doentes com HSA e hiponatrémia, nas duas primeiras semanas após a ocorrência da HSA ⁵⁴. Nos indivíduos com vasoespasma sintomático, este aumento é ainda mais marcado e progressivo ⁹⁶. Foram também associados níveis séricos elevados de BNP, após HSA, a necrose do miocárdio, edema pulmonar e disfunção sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo ⁷³.

O mecanismo de acção e a fonte de BNP nos doentes com HSA não foi ainda clarificado. Foi especulado que o aumento de BNP nestes doentes poderia resultar da resposta de fase aguda que ocorre neste contexto, com consequente libertação de noradrenalina, conduzindo a uma maior produção cardíaca do peptídeo, de um

aumento de produção de endotelina-1 ¹¹⁰ ou de lesão da região hipotalâmica causada pela HSA e agravada por vasoespasmos ⁶. É também argumentado que alguns doentes com HSA têm evidência de lesão cardíaca, incluindo alterações electrocardiográficas e alterações da motilidade da parede cardíaca ⁷⁹ e que algumas destas situações poderiam estimular a secreção de BNP.

3.6.2. BNP no contexto de AVC isquémico

Alguns trabalhos realizados mostraram uma elevação aguda do NT-proBNP durante a fase aguda do AVC isquémico ^{25,53,64,32}.

Etgen (2005) realizou um estudo que tinha como objectivo avaliar o valor prognóstico das troponinas e do NT-proBNP no AVC isquémico. Foram incluídos 174 doentes com AVC isquémico agudo, em que foi medida a concentração sérica de NT-proBNP ao primeiro, segundo e terceiro dia após instalação do AVC. Neste estudo, foram encontrados níveis elevados de NT-proBNP em 114 doentes, em comparação com os valores de ponto de corte apresentados pelo fabricante, para insuficiência cardíaca. O NT-proBNP atingiu o valor mais elevado no terceiro dia após a instalação do AVC. Os autores sugeriram que esta elevação poder-se-ia dever a disfunção ventricular nos doentes com AVC isquémico ou surgir após activação simpática. Não foi encontrada uma associação entre NT-proBNP e mortalidade a curto prazo ²⁵. Neste estudo não foram excluídos doentes com insuficiência cardíaca ou insuficiência renal.

Makikallio (2005) reportou níveis elevados de NT-proBNP em 51 doentes com um primeiro AVC isquémico quando comparado com controlos saudáveis. O sangue

para doseamento de NT-proBNP foi colhido no segundo dia após admissão hospitalar. Foi encontrada uma associação entre os níveis de NT-proBNP e mortalidade a longo prazo, após um seguimento dos doentes durante 4 anos. Os autores apontaram como razão mais provável da elevação de NT-proBNP uma origem cerebral, especulando que níveis elevados de NT-proBNP na fase aguda do AVC estavam relacionados com a magnitude da lesão e assim associando-se a uma maior mortalidade após o AVC ⁵³.

Nakagawa (2005) avaliou 88 doentes com AVC isquémico e 44 com AVC hemorrágico. O objectivo do seu trabalho era medir as concentrações plasmáticas do BNP em doentes com AVC para investigar o seu potencial papel na regulação hemodinâmica durante o período isquémico agudo. Os níveis de BNP estavam significativamente elevados na fase aguda e diminuíram no período subagudo. Os níveis de BNP nos doentes com enfarte cerebral sem FA correlacionavam-se com a pressão arterial média na altura da admissão. Nos doentes com enfarte cerebral com FA os níveis de BNP tinham uma correlação negativa com a pressão arterial na altura da admissão. O autor colocou a hipótese de valores mais elevados de BNP nos doentes com FA resultarem da existência de alterações cardíacas tais como dilatação auricular esquerda, hipertrofia cardíaca e cardiomiopatia que resultaram em menor débito cardíaco nestes doentes e consequente diminuição da pressão arterial. Neste estudo, foram excluídos os doentes com doença renal e com ICC ⁶⁴.

Giannakoulas (2005) mediu os níveis de NT-proBNP, em 30 doentes, nas primeiras 24 horas após AVC isquémico e ao sexto dia após início do AVC. Encontrou níveis de NT-proBNP superiores de forma estatisticamente significativa nos indivíduos com AVC quando comparados com controlos. As diferenças entre os níveis de NT-

proBNP ao primeiro dia e sexto dia não eram significativas. Os níveis de NT-proBNP eram estatisticamente superiores nos indivíduos com AVC cardioembólico quando comparado com enfartes aterotrombóticos. Não se verificou uma correlação entre o NT-proBNP circulante e a topografia do AVC, tamanho do enfarte ou gravidade medida pela escala NIHSS. Os autores consideraram que a elevação do NT-proBNP era consequência da activação neurohumoral após AVC, quer como resposta vasodilatadora à isquémia cerebral ou por disfunção miocárdica directa ³².

Jensen (2006) estudou a evolução temporal dos níveis de NT-proBNP durante a fase aguda do AVC isquémico e procurou avaliar o valor prognóstico a curto prazo. O NT-proBNP foi medido diariamente desde a admissão até 5 dias depois e aos 6 meses após admissão hospitalar. Foram incluídos 250 doentes. O nível de NT-proBNP atingiu o valor mais elevado no dia após o início de sintomas e diminuiu até ao quinto dia. Verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o dia 0 e 1 e entre o dia 1 e 5. Não existiu uma diferença estatisticamente significativa entre o valor de NT-proBNP ao quinto dia e aos seis meses. O ponto de corte de NT-proBNP > 615 pg/mL, ao segundo dia após o início de sintomas, associou-se à mortalidade aos 6 meses, com uma sensibilidade de 74% e uma especificidade de 75% ⁴³.

Itumur (2006) numa amostra de 57 doentes com AVC isquémico, avaliou os níveis séricos de NT-proBNP no dia de instalação do AVC e posteriormente nos dias 3, 5 e 10. Documentou aumento do nível de NT-proBNP em doentes com AVC isquémico relativamente a controlos, com o nível mais elevado de NT-proBNP a ser registado no dia de instalação do AVC. Os doentes com sinais de isquémia do miocárdio marcada e doentes com envolvimento do córtex insular tinham níveis de NT-proBNP

ainda mais elevados. Contudo a associação entre o envolvimento do córtex insular e níveis de NT-proBNP não tinha significado estatístico. Verificou-se uma correlação positiva entre os valores de NT-proBNP e a frequência cardíaca e valores de troponina I e uma correlação negativa com a fracção de ejeção ventricular esquerda. Os autores consideraram que o aumento de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico era secundário a disfunção cardíaca ⁴⁰.

Yip (2006), mediu os valores de NT-proBNP nas primeiras 48 horas após AVC isquémico e posteriormente ao dia 7, 21 e 90 após AVC. Verificou que nos 86 doentes com AVC isquémico agudo, a média dos níveis de NT-proBNP estava significativamente elevada, quando comparada com controlos. Não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre níveis de NT-proBNP avaliados no dia de instalação do AVC e sete dias depois. Os níveis de NT-proBNP declinaram de forma significativa após este período. Verificou-se que os doentes com níveis mais elevados de NT-proBNP em qualquer uma das quatro medições tiveram maior número de eventos clínicos desfavoráveis (enfarte agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva, AVC recorrente ou qualquer causa de morte), com um tempo de seguimento médio de 24 meses ¹¹⁶.

Koenig (2007) procurou determinar se o BNP seria um marcador específico de insuficiência cardíaca congestiva (ICC) nos doentes com AVC, através de um estudo caso-controlo. Setenta e dois doentes com AVC isquémico ou hemorrágico foram divididos em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de ICC, segundo os critérios modificados de Framingham. Foram obtidos níveis elevados de NT-proBNP em 78% dos doentes. Num modelo de regressão múltipla a elevação de NT-

proBNP não estava independentemente associada a ICC ou disfunção ventricular esquerda nos doentes com AVC ⁴⁵.

Di Angelantonio (2007), avaliou 48 doentes com AVC isquémico ou AIT, que realizaram Ecocardiograma Transtorácico e Ecocardiograma Transesofágico e observou elevação de BNP no AVC agudo nos doentes com doença da aurícula esquerda. O sangue para doseamento de BNP foi colhido num tempo médio de 12,7 horas após o início de sintomas do AVC ou AIT. Com um efeito marginal do BNP no NHISS e ausência de associação entre aumento de BNP e o tamanho da lesão isquémica em difusão, os achados não estavam de acordo com a sugestão de que o parênquima cerebral era a origem do aumento de BNP nestas situações. A idade avançada, insuficiência cardíaca congestiva crónica, fibrilhação auricular, gravidade do AVC, anemia, baixa fracção de ejeção ventricular e alterações da aurícula esquerda ou apêndice auricular esquerdo estavam univariavelmente associados a níveis elevados de BNP. Numa análise multivariada, a presença de uma alteração da aurícula ou apêndice auricular esquerdo tinha a associação mais forte com os níveis de BNP. Foi sugerido que o BNP era um marcador de disfunção auricular esquerda, mesmo na ausência de FA ²².

Montaner (2008) avaliou o valor diagnóstico de um painel de potenciais biomarcadores para identificar as diferentes etiologias dos AVCs isquémicos, numa série de 707 doentes com AVC ou AIT. As amostras de sangue eram colhidas nas primeiras 24 horas após instalação de sintomas do AVC, na chegada ao Serviço de Urgência. O peptídeo natriurético cerebral foi uma das substâncias avaliadas. Observaram-se níveis elevados de BNP e D-dímeros nos doentes com AVC cardioembólico. O ponto de corte de BNP > 76 pg/mL indicou uma etiologia

cardioembólica com uma sensibilidade de 72%, uma especificidade de 69%, um valor preditivo positivo de 55% e um valor preditivo negativo de 82%. A associação de um valor de BNP > 76 pg/mL e de D-dímeros > 0,96 µg/mL tinha um valor preditivo positivo para AVC cardioembólico de 70% ⁶¹.

Naya (2008) avaliou 76 doentes com AVC isquémico, que foram divididos em dois grupos segundo a etiologia do AVC: cardioembólico e não cardioembólico. Os níveis de BNP foram avaliados na manhã após a admissão hospitalar por AVC. Nos doentes com AVC cardioembólico relacionado com FA (permanente ou paroxística), os níveis plasmáticos de BNP e o diâmetro da aurícula esquerda estavam significativamente aumentados e a velocidade do fluxo no apêndice auricular esquerdo estava significativamente diminuída em comparação com os indivíduos com AVC não cardioembólico. Foi sugerido que os valores de BNP no primeiro dia após admissão hospitalar e a avaliação do fluxo no apêndice auricular esquerdo poderiam ajudar a distinguir AVC cardioembólico relacionado com FA de outras etiologias ⁶⁶.

Gartner (2008) procurou determinar marcadores plasmáticos indicadores de enfartes cerebrais clinicamente silenciosos associados a FA. Foram avaliados diferentes marcadores plasmáticos que incluíram a secretagogina, S100B, neuropeptidase Y, metaloproteinase 9, D-dímeros e BNP em 222 doentes com FA. Foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre a concentração plasmática do BNP e a gravidade dos enfartes cerebrais clinicamente silenciosos associados a FA ²⁹.

Tomita (2008) procurou testar a hipótese de que os níveis plasmáticos de BNP estariam aumentados na doença cerebrovascular, independentemente de doença

cardíaca e reflectiriam a gravidade do enfarte cerebral. Foram incluídos 79 doentes com AVC que foram distribuídos pelas etiologias aterosclerose de grandes vasos, doença de pequenos vasos e AVC hemorrágico. Os níveis plasmáticos de BNP foram superiores nos doentes com AVC de etiologia aterosclerose de grandes vasos de forma estatisticamente significativa. O nível de BNP correlacionou-se positivamente com a classificação da escala NIHSS (avaliação clínica da gravidade do AVC) e com o volume de enfarte ⁹⁹.

Encontram-se resumidos na Tabela 3, os estudos publicados sobre o BNP no contexto da fase aguda do AVC isquémico

<i>Autor</i>	<i>Resumo do estudo</i>
Etgen ²⁵	<p>Níveis elevados de NT-proBNP no AVC isquémico, em comparação com os valores de ponto de corte para insuficiência cardíaca.</p> <p>Não foi encontrada associação entre NT-proBNP e mortalidade a curto prazo.</p> <p>Elevação poder-se-ia dever a disfunção ventricular ou surgir após activação simpática.</p>
Makikallio ⁵³	<p>Níveis elevados de NT-proBNP no AVC isquémico quando comparado com controlos saudáveis</p> <p>Encontrada uma associação positiva entre os níveis de NT-proBNP e mortalidade a longo prazo</p> <p>Razão mais provável da elevação de NT-proBNP origem cerebral</p>
Nakagawa ⁶⁴	<p>Níveis de BNP significativamente elevados na fase aguda; diminuíram no</p>

	<p>período subagudo.</p> <p>Níveis de BNP correlacionavam-se com a pressão arterial média</p>
Giannakoulas ³²	<p>Níveis de NT-proBNP superiores no AVC cardioembólico quando comparado com enfarte aterotrombótico.</p> <p>Activação neurohormonal ocorre em doentes com AVC isquémico, em resposta a isquémia cerebral ou disfunção miocárdica directa</p>
Jensen ⁴³	<p>Nível de NT-proBNP atingiu pico no dia após o início de sintomas seguido por declive até dia 5.</p> <p>Nível de NT-proBNP no 2º dia após o início de sintomas associou-se à mortalidade aos 6 meses.</p>
Itumur ⁴⁰	<p>Doentes com sinais de isquémia do miocárdio e doentes com envolvimento do córtex insular tiveram níveis de NT-proBNP mais elevados que os restantes doentes, contudo sem significado estatístico</p>
Yip ¹¹⁶	<p>Não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre níveis de NT-proBNP avaliados no dia de instalação do AVC e sete dias depois</p> <p>Verificou-se que os doentes com níveis mais elevados de NT-proBNP tiveram maior número de eventos clínicos desfavoráveis (enfarte agudo do miocárdio, insuficiência cardíaca congestiva. AVC recorrente ou qualquer causa de morte)</p>
Koenig ⁴⁵	<p>A elevação de NT-proBNP não foi independentemente associada a ICC.</p>
Di Angelantonio ²²	<p>Sugerido que o BNP é um marcador de disfunção auricular esquerda, mesmo na ausência de FA.</p>
Montaner ⁶¹	<p>NT-proBNP>76 pg/mL indicou etiologia cardioembólica com uma sensibilidade de 72% uma especificidade de 69% e um valor preditivo negativo de 82%</p>

Naya ⁶⁶	Valores de BNP no primeiro dia após admissão hospitalar e a avaliação do fluxo no apêndice auricular esquerdo poderiam ajudar a distinguir AVC cardioembólico relacionado com FA de outras etiologias
Gartner ²⁹	Encontrada uma associação estatisticamente significativa entre a concentração plasmática do BNP e a gravidade dos enfartes cerebrais clinicamente silenciosos associados a FA
Tomita ⁹⁹	Os níveis plasmáticos de BNP foram superiores nos doentes com AVC de etiologia aterosclerose de grandes vasos de forma estatisticamente significativa. O nível de BNP correlacionou-se positivamente com a classificação da escala NIHSS e com o volume de enfarte

Tabela 3 – Quadro resumo dos estudos realizados sobre o BNP na fase aguda do AVC isquémico

Em suma, a causa da elevação do BNP durante o AVC isquémico agudo é ainda incerta. Quatro hipóteses são colocadas:

- Os doentes com AVC são frequentemente doentes com diversos factores de risco vascular e têm muitas vezes uma insuficiência cardíaca aguda ou crónica. Assim, a secreção aumentada de BNP pode reflectir disfunção ventricular concomitante.
- Níveis anormalmente elevados de BNP podem relacionar-se com FA, um dos maiores factores de risco para AVC e uma causa conhecida de elevação de BNP.
- O cérebro é um dos locais de produção de BNP. Apesar de o cérebro produzir apenas uma pequena quantidade de BNP, é possível que após uma lesão aguda do parênquima cerebral ocorra uma libertação de BNP detectável no plasma.

- Tendo o BNP efeitos simpaticoinibitórios centrais e periféricos, é colocada a hipótese de o aumento do BNP surgir em resposta a um aumento da actividade simpática que ocorre após o AVC. As alterações autonómicas do AVC agudo aparecem em alguns trabalhos associadas a lesão da ínsula do hemisfério direito ⁷⁰. Os enfartes da ínsula foram associados a aumento dos níveis de norepinefrina, alterações no ECG e nos padrões circadianos de pressão arterial. Nestes casos ocorrerá uma resposta inflamatória com aumento da interleucina 6. A interleukina 6 pode aumentar directamente os níveis de BNP.

4. Hipótese

O aumento dos níveis séricos do NT-proBNP no AVC isquémico tem uma origem cardíaca, podendo ser utilizado como um marcador de AVC isquémico de etiologia cardioembólica.

5. Objectivos

5.1. Objectivo primário

- a) Determinar se existe uma associação estatisticamente significativa entre os níveis séricos de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico e a subcategoria AVC de etiologia cardioembólica segundo a classificação “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment” (TOAST).

5.2. Objectivos secundários

- a) Medir os níveis séricos de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico e nos indivíduos com hemorragia intracraniana cerebral primária nas primeiras 72 horas após início de sintomas e avaliar se existia uma diferença estatisticamente significativa entre o nível de NT-proBNP nos doentes com AVC isquémico e nos doentes com hemorragia intracraniana cerebral primária;
- b) Determinar se existe, nos indivíduos com AVC isquémico, uma associação entre os níveis séricos de NT-proBNP e a topografia do AVC
- c) Determinar se existe, nos indivíduos com AVC isquémico, uma associação entre os níveis séricos de NT-proBNP e a extensão do AVC determinada por TC-CE utilizando a escala “Alberta Stroke Program Early CT Score” (ASPECTS).

- d) Determinar se existe uma associação entre os níveis séricos do NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico e os valores de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica e diastólica (indicadores indirectos de activação do sistema nervoso simpático).
- e) Determinar se existe uma associação entre os níveis séricos do NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico e alterações de ecocardiograma transtorácico ou transesofágico no que diz respeito a dimensões da aurícula esquerda, presença de trombos, autocontraste na aurícula esquerda ou presença de foramen oval patente.

6. Material e Métodos

6.1. Local de estudo

O estudo decorreu na enfermaria da Unidade Cérebro-Vascular do Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria.

6.2. Selecção da Amostra

Amostra consecutiva de doentes com AVC de tipo isquémico ou hemorrágico, internados na Unidade Cérebro-Vascular do Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria entre Novembro de 2007 e Agosto de 2008. Foram incluídos os doentes que cumpriam os seguintes critérios:

Critérios de inclusão:

- a) AVC (de tipo isquémico ou hemorrágico), segundo a Organização Mundial de Saúde ¹¹² - “desenvolvimento rápido de sinais clínicos de perturbação focal (por vezes global) da função cerebral, com duração superior a de 24 horas ou conduzindo à morte, sem outra causa aparente que não uma origem vascular”.
- b) Colheita de sangue para doseamento de níveis séricos de NT-proBNP nas primeiras 72h após início de sintomas do AVC.

Critérios de exclusão:

- a) Doença cardíaca isquémica (Antecedentes pessoais de enfarte do miocárdio, angina de peito, revascularização coronária ou alterações ecocardiográficas ou electrocardiográficas sugestivas, segundo os critérios do código de Minnesota ⁷¹).
- b) Insuficiência cardíaca congestiva (antecedentes pessoais ou diagnóstico durante o internamento através dos critérios modificados de Framingham ⁵⁹ para Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC) ou por determinação no ecocardiograma de fracção de encurtamento inferior a 30%).
- c) Insuficiência renal aguda ou insuficiência renal crónica (taxa de filtração glomerular, determinada pela equação de Cockcroft-Gault, inferior a 90 mL/min, realização de hemodiálise ou diálise peritoneal).
- d) Doença cardíaca estrutural (Antecedentes pessoais ou demonstração ecocardiográfica de cardiomiopatia, doença cardíaca congénita, cirurgia cardíaca prévia, estenose mitral ou regurgitação mitral, estenose ou regurgitação tricúspide, estenose ou regurgitação aórtica, prolapso da válvula mitral).
- e) Anemia (definida como valores de Hgb inferiores a 12,0 g/dL).
- f) Hemorragia subaracnoideia (demonstrada por punção lombar ou por TC-CE ou RMN-CE com presença de sangue no espaço subaracnoideu).
- g) Trombose Venosa Cerebral (determinada por exame de neuroimagem- RMN-CE e/ou angiografia cerebral).

- h) Neoplasia cerebral (antecedentes pessoais ou diagnóstico durante o internamento).
- i) Hipertensão pulmonar (antecedentes pessoais ou demonstração por ecocardiograma).

6.3. Desenho do Estudo

Os doentes com AVC isquémico ou hemorrágico foram admitidos através do Serviço de Urgência do Hospital de Santa Maria e internados no Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria (Figura 2).



Figura 2- Desenho do estudo

Após a sua admissão, foram registados os seguintes dados:

1) Demográficos

- i) idade
- ii) sexo

2) Antecedentes pessoais

- i) Hipertensão arterial – história pessoal de pressão arterial sistólica superior a 140 mmHg ou pressão arterial diastólica superior a 90 mmHg em dois períodos no tempo antes da admissão hospitalar ou evidência de tratamento com fármacos anti-hipertensores
- ii) Diabetes mellitus – Diagnóstico de diabetes mellitus, tratamento com antidiabéticos orais ou insulina ou diagnóstico da doença durante o internamento hospitalar (glicemia em jejum >126 mg/dL e/ou glicemia pós-prandial > 200 mg/dL e/ou prova de tolerância à glicose com valores de glicemia >200 mg/dL à 2ª hora)
- iii) Tabagismo – consumo actual ou passado de tabaco
- iv) Dislipidémia – Diagnóstico de hipercolesterolemia ou hipertrigliceridemia ou tratamento com fármacos hipolipemiantes ou valor de colesterol sérico após jejum de 12 horas > 240 mg/dL
- v) Fibrilhação auricular prévia – História pessoal de diagnóstico prévio de fibrilhação auricular ou evidência electrocardiográfica desta arritmia num registo prévio ao internamento hospitalar actual

- vi) Doença cardíaca isquémica – História pessoal de angina peito, enfarte do miocárdio ou revascularização coronária
- vii) Patologia valvular (estenose ou insuficiência) – História pessoal de estenose ou regurgitação mitral, estenose ou regurgitação tricúspide, estenose ou regurgitação aórtica
- viii) Insuficiência renal crónica – História pessoal de insuficiência renal crónica, realização de hemodiálise ou diálise peritoneal
- ix) Insuficiência cardíaca – História pessoal de diagnóstico prévio de insuficiência cardíaca, cardiomiopatia, doença cardíaca congénita

6.4. Colheita e determinação de NT-proBNP

Nas primeiras 72 horas após início de sintomas do AVC, nos doentes que cumpriam os critérios de inclusão e exclusão, foram colhidos 4 ml de sangue, de uma veia periférica, para determinação da concentração sérica de NT-proBNP. Foi obtido previamente um consentimento informado assinado pelo doente ou por um familiar.

O sangue foi colhido para tubos secos que foram enviados para o Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Santa Maria. Posteriormente, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos. A determinação da concentração sérica de NT-proBNP foi realizada de forma imediata, através de um imunoensaio de electroquimioluminiscência (ECLIA) utilizando o sistema Elecsys 2010 da Roche Diagnostics®. Neste imunoensaio ocorre a reacção em simultâneo

de um anticorpo anti-NT-proBNP policlonal biotilado e de um anticorpo NT-proBNP policlonal marcado com ruténio para epitopos do NT-proBNP. Os anticorpos formam um complexo em “sanduíche” com o marcador cardiovascular presente no sangue. O complexo antigénico-anticorpo é capturado através de uma reacção biotina-estreptavidina. A mistura que resulta da reacção é aspirada para uma célula de leitura onde as micropartículas são capturadas magneticamente para a superfície de um eléctrodo. A aplicação de uma voltagem ao eléctrodo induz posteriormente uma emissão quimioluminescente, que é medida ¹⁴. O “software” integrado do sistema converte a intensidade do sinal num valor quantitativo.

Os valores de NT-proBNP, considerados como parâmetros de referência, para diagnóstico de insuficiência cardíaca, utilizados no Serviço de Patologia Clínica de Hospital de Santa Maria variam com o sexo e idade do doente e foram obtidos em dados de sangue (tabela 4).

	<50 anos	50-65 anos
Homens	88 pg/mL	227 pg/mL
Mulheres	153 pg/mL	334 pg/mL

Tabela 4 – Valores de referência do NT-proBNP utilizados no Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Santa Maria para diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva

6.5. Neuroimagem

Todos os doentes realizaram, na admissão hospitalar, uma tomografia computadorizada crâneo-encefálica (TC-CE) sem contraste que permitiu classificar o AVC em isquêmico ou hemorrágico. As TC-CE foram observadas por um neuroradiologista.

Considerou-se como enfarte cerebral uma área hipodensa, com densidade igual ou inferior a 35 Hounsfield Units, tida como anormal relativamente à atenuação de outras partes das mesmas estruturas ou do hemisfério contralateral.

Definiu-se hemorragia cerebral intraparenquimatosa aguda, em TC-CE, como uma área circunscrita hiperdensa (densidade aproximada de 80 Hounsfield Units) relativamente ao parênquima cerebral adjacente (densidade de 35 Hounsfield Units). Foi considerada transformação hemorrágica de um enfarte cerebral em TC-CE, a presença de uma área hiperdensa não homogênea na periferia ou interior de uma área hipodensa restringida a um território vascular.

Cerca de 48-72 horas após a admissão hospitalar foi realizada uma segunda TC-CE sem contraste, que permitiu visualizar a área final de enfarte nos indivíduos com AVC isquêmico. Quando não era evidente a localização da área de enfarte na segunda TC-CE, foi realizada uma Ressonância magnética crâneo-encefálica (RMN-CE) de 1,5 T, com imagem ponderada em difusão. A realização destes exames de imagem permitiu:

- a) Dividir os AVCs isquêmicos segundo o território arterial envolvido em anterior ou carotídeo vs posterior ou vertebro-basilar

- b) Classificar a extensão dos AVC isquémicos segundo a escala ASPECTS ¹⁶.

Nos casos em que foi apenas possível obter imagem do enfarte através de RMN-CE, realizou-se uma adaptação dos critérios da escala ASPECTS à RMN-CE.

Escala “Alberta Stroke Program Early CT Score” (ASPECTS)

ASPECTS é um sistema de classificação topográfico quantitativo, utilizado para avaliar imagens de TC-CE, que divide o território da Artéria cerebral média (ACM) em 10 regiões de interesse. A classificação é feita a partir de dois cortes axiais de TC-CE, um ao nível do tálamo e gânglios da base e outro adjacente à margem superior destas estruturas, mas de forma a que não sejam visualizáveis nesse corte. A cada uma das regiões de interesse é atribuído um ponto. Um exame normal tem uma classificação de 10 pontos. Por cada região envolvida na área de enfarte é subtraído um ponto. Considera-se uma região envolvida na área de enfarte quando existe hipoatenuação do parênquima cerebral definida como uma área de hipoatenuação anormal relativamente à atenuação de outras partes das mesmas estruturas ou do hemisfério contralateral ¹⁶.

6.6. Avaliação de parâmetros vitais

Com o objectivo de avaliar indirectamente a activação do sistema nervoso autónomo foram registados os valores da:

- a) Pressão arterial sistólica

- b) Pressão arterial diastólica
- c) Frequência cardíaca

Estes parâmetros foram avaliados após a admissão do doente no Serviço de Neurologia do HSM, tendo sido realizadas três avaliações consecutivas com 8 horas de intervalo.

6.7. Investigação e classificação etiológica dos AVCs isquémicos

Para investigação etiológica do AVC isquémico, durante o internamento, os doentes realizaram:

- a) Avaliação analítica com hemograma, velocidade de sedimentação, glicose, função hepática, função renal, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos, electroforese de proteínas, VDRL e estudos de coagulação. Nos doentes com idade inferior a 55 anos e AVC isquémico foi realizada adicionalmente pesquisa de autoanticorpos, proteína C, proteína S, anti-trombina III, anticoagulante lupico, anticorpos anticardiolipina, doseamento do fibrinogénio, estudo do complemento, serologias para HIV1, HIV2, marcadores de hepatite B e C.
- b) Eco-doppler dos vasos do pescoço - Através deste exame foi avaliada a existência de estenose arterial ipsilateral ao AVC <50% (estenose não significativa), estenose ipsilateral > 50% (estenose significativa), oclusão ou dissecção.

- c) Doppler transcraniano, tendo sido registada a presença ou ausência de estenoses intracranianas, consideradas sintomáticas quando se encontravam num território arterial coincidente com o do AVC.
- d) Ecocardiograma transtorácico em modo M, bidimensional + estudo Doppler e/ou ecocardiograma transesofágico. O ecocardiograma transesofágico foi realizado em doentes com menos de 55 anos ou doentes com aspectos clínicos ou imagiológicos sugestivos de AVC de etiologia cardioembólica. Estes exames foram realizados por um cardiologista, sem conhecimento do valor sérico do NT-proBNP. A realização deste exame permitiu excluir doentes que apesar de não terem evidência clínica de insuficiência cardíaca, tinham alterações ecocardiográficas compatíveis com este diagnóstico. Foram registados os seguintes parâmetros: dimensões da aurícula esquerda (dicotomizada como dilatada ou não dilatada, com um ponto de corte de 50 mm), presença de autocontraste na aurícula esquerda, presença de trombos, fracção de encurtamento, presença de foramen ovale patente, presença ou ausência de segmentos acinéticos na parede ventricular.
- e) Electrocardiograma (ECG) de 12 derivações. Todos os doentes realizaram pelo menos 2 ECGs - um na admissão hospitalar e outro durante o internamento. O resultado deste exame foi registado como: ritmo sinusal, fibrilhação auricular, flutterauricular, doença do nóculo sinusal ou outro
- f) Registo de 24 horas de Holter (quando permanecia uma forte suspeita de uma etiologia cardioembólica com base na história clínica e exames imagiológicos do doente e a etiologia era indeterminada). Foi registada a

presença de ritmo sinusal, fibrilhação auricular, flutter auricular ou doença do nódulo sinusal.

- g) Em alguns doentes, quando a etiologia do AVC permanecia desconhecida, foi completada investigação etiológica com realização de punção lombar para exame citoquímico, serológico e microbiológico do LCR. Foi também realizada, em casos seleccionados, Angio-RMN-CE, Angio-TC-CE ou angiografia digital cerebral.

Com base na informação clínica e exames complementares de diagnóstico os AVC isquémicos foram classificados relativamente à sua etiologia segundo a classificação “*Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment*” (TOAST) ¹.

Classificação TOAST

A classificação TOAST divide os AVCs isquémicos segundo a etiologia em 5 grupos: cardiembólico, aterosclerose de grandes vasos, oclusão de pequenos vasos, outra etiologia determinada ou etiologia indeterminada.

Esta classificação atribui uma etiologia aterosclerótica de grandes vasos quando existem achados clínicos e imagiológicos sugestivos de estenose significativa (>50%) ou oclusão de uma grande artéria cerebral ou ramo de artéria cortical, presumivelmente devido a aterosclerose. Os estudos diagnósticos devem excluir uma etiologia cardioembólica.

A classificação de AVC cardioembólico inclui doentes com oclusão arterial presumivelmente devido a um êmbolo com origem cardíaca. Para que esta classificação seja atribuída é necessário a identificação de uma fonte cardíaca. As fontes cardíacas são subdivididas em alto-risco ou médio-risco, com base na evidência da sua propensão relativa para embolizar (Tabela 1). Num doente com uma fonte cardíaca de médio risco em que não seja detectada uma outra causa é atribuída uma causa etiologia cardioembólica possível.

Para que seja atribuída uma classificação etiológica de AVC por oclusão de pequenos vasos ou lacunar é necessário que o doente tenha um dos síndromes clínicos lacunares tradicionais (sensitivo, motor, sensitivo-motor, hemiparésia-atáxia ou disartria-mão desajeitada) e não exista evidência de disfunção cortical. O doente deve ter um exame de imagem – TC ou RM-CE sem alterações ou uma lesão no tronco cerebral ou hemisférica subcortical com um diâmetro inferior a 1,5 cm. Devem estar ausentes fontes cardíacas embólicas possíveis e não deve existir estenose ipsilateral > 50% de uma artéria extracraniana ipsilateral.

A classificação de AVC com outras etiologias determinadas inclui doentes com causas raras de AVC incluindo vasculopatias não ateroscleróticas, alterações hematológicas ou estados hipercoagulantes.

Quando após toda a investigação etiológica não é possível determinar a etiologia do AVC ou quando são detectadas mais que uma causa possível é atribuída a classificação de AVC de etiologia indeterminada ¹.

Após a distribuição dos doentes segundo os grupos da classificação TOAST, os doentes com AVC isquémico foram agrupados em dois subgrupos:

- a) Cardioembólicos (correspondendo à classificação cardioembólica da classificação TOAST)
- b) Não-cardioembólicos (correspondendo à classificação aterosclerose de grandes vasos + oclusão de pequenos vasos + outra etiologia determinada + etiologia indeterminada da classificação TOAST)

6.8. Investigação dos doentes com AVC hemorrágico

Todos os doentes realizaram avaliação analítica, electrocardiograma de 12 derivações e ecocardiograma transtorácico.

6.9. Comissão de Ética

O projecto foi aprovado pela Comissão de ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa e pela Comissão de Ética do Hospital de Santa Maria.

Foi obtido um consentimento informado escrito, assinado pelo doente. Quando devido à presença de alteração do estado de consciência, alteração da linguagem, deterioração cognitiva ou alteração motora, o doente se encontrava impossibilitado

de assinar o consentimento informado, este foi obtido através da família ou de um representante legal.

6.10. Análise estatística

Estatística descritiva

Foi realizada uma análise estatística descritiva dos dados demográficos e factores de risco vascular da amostra total de doentes e dos grupos com AVC hemorrágico, AVC isquémico e subgrupos AVC isquémico de etiologia cardioembólica e com AVC isquémico não cardioembólico. Os resultados foram expressos em tabelas de frequência para caracterizar as variáveis categoriais e medidas de tendência central (média e desvio padrão) para caracterizar a distribuição das variáveis contínuas com distribuição normal.

Foram comparados os grupos AVC hemorrágico vs AVC isquémico e subgrupos AVC cardioembólico vs AVC não-cardioembolico. A significância das associações entre as variáveis categóricas, foi avaliada através do teste qui-quadrado, sempre que as frequências esperadas foram superiores a cinco. Quando tal não se verificou foi utilizado o teste exacto de Fisher. A significância das associações das variáveis contínuas com distribuição normal foi avaliada através do teste t-Student e das variáveis ordinais através do teste de Mann-whitney. Não se fez correcção para comparações múltiplas.

Comparação dos valores séricos de NT-proBNP

Para comparar os valores de NT-proBNP nos diferentes tempos de colheita de sangue foi utilizada uma análise de variância a um factor.

Foi realizada uma comparação das médias dos valores de NT-proBNP no grupo de doentes com AVC hemorrágico e AVC isquémico e entre o subgrupo de doentes com AVC de etiologia cardioembólica e doentes com AVC não-cardioembólico. Para analisar especificamente o subgrupo de doentes com AVC cardioembólico associado a FA, foi comparado a média do valor de NT-proBNP nos indivíduos com AVC cardioembólico associado a FA e nos indivíduos com AVC isquémico não-cardioembólico+FOP. Os valores de NT-proBNP não seguiram uma distribuição normal, tendo sido realizada uma transformação logaritmica. Após a transformação logaritmica obteve-se uma nova variável lnBNP que seguia uma distribuição normal. Foi posteriormente utilizado o teste t-Student.

Determinação de curvas “Receiver Operating Characteristic” (ROC)

As curvas ROC são uma forma de representar a relação, habitualmente de sentido oposto, entre a sensibilidade e a especificidade de um teste diagnóstico quantitativo, ao longo de um contínuo de valores de corte.

Para determinar a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC isquémico, cardioembólico (total) e cardioembólico (FA) foram obtidas curvas ROC com os respectivos índices área abaixo da curva. A área abaixo da curva ROC está associada ao poder discriminante de um teste de diagnóstico. A um teste perfeito corresponde uma área abaixo da curva de 1. Quando o índice área abaixo da curva foi significativo ($> 0,5$), foi determinado o ponto de corte com a maior sensibilidade e especificidade. Foi também determinado o valor preditivo positivo e negativo associado aos pontos de corte estabelecidos.

Pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, frequência cardíaca média e valores séricos de NT-proBNP

A partir dos 3 valores avaliados de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e frequência cardíaca obteve-se um valor médio, para cada doente, de cada um destes parâmetros.

Para estudar a associação entre a pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, frequência cardíaca média e valores de NT-proBNP foi realizada uma análise de regressão linear simples. Foram determinados os coeficientes de regressão e os intervalos de confiança a 95%

Território arterial e valores séricos de NT-proBNP

Para avaliar a associação entre o envolvimento de um território arterial definido com anterior ou carotídeo ou posterior ou vértebro-basilar e o valor sérico de NT-proBNP foi utilizado o teste t-Student.

Extensão do AVC isquêmico e valores séricos de NT-proBNP

Para avaliar a associação entre a extensão do AVC isquêmico, com base na escala ASPECTS, e os valores séricos de NT-proBNP foi utilizada uma análise de correlação de Kendall.

Características ecocardiográficas

Para avaliar a associação entre a dimensão da aurícula esquerda, definida como dilatada ou não dilatada e os valores séricos de NT-proBNP foi utilizado o teste t-Student.

A análise estatística foi realizada no programa SPSS 15.0 versão para Windows. Para todos os testes estatísticos o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

7. Resultados

7.1. Selecção da amostra

Entre Novembro de 2007 e Agosto de 2008 foram internados 202 doentes com AVC isquémico e hemorrágico na Unidade Cérebro-Vascular do Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria. De entre estes doentes, 92 cumpriam os critérios de inclusão e exclusão. Na tabela 5 estão quantificados os doentes excluídos.

Motivo de exclusão	Nº	%
Hemorragia subaracnoideia	32	29,1
Trombose venosa cerebral	7	6,4
Patologia cardíaca	36	32,7
> 72 horas	20	18,2
Insuficiência renal	1	0,9
Neoplasia cerebral	1	0,9
Anemia	1	0,9
Ecocardiograma não realizado	3	2,7
Hipertensão pulmonar	1	0,9
Colheita insuficiente	8	7,3

Tabela 5 – Tabela de frequência com os motivos de exclusão dos doentes não incluídos

A principal causa de exclusão de doentes foi a presença de patologia cardíaca. Os doentes com patologia cardíaca incluíram 17 doentes com doença cardíaca isquémica, 9 doentes com insuficiência cardíaca congestiva, 1 doente simultaneamente com doença cardíaca isquémica e insuficiência cardíaca congestiva, 8 doentes com doença valvular cardíaca e 1 doente com cirurgia cardíaca prévia.

7.2. Características demográficas

Os doentes incluídos tiveram uma média de idades de 58,6 \pm 14,4 anos, com um mínimo de 28 anos e um máximo de 100 anos. Relativamente ao género, 59 doentes (64,1%) eram homens e 33 mulheres (35,9%). Sessenta e seis tiveram um AVC isquémico (71,7%) e 26 um AVC hemorrágico (28,3%).

Os dados demográficos, factores de risco vascular e parâmetros vitais dos doentes com AVC isquémico e hemorrágico encontram-se representados na tabela 6.

Ao analisar separadamente os grupos com AVC isquémico e AVC hemorrágico verificou-se que os doentes com AVC isquémico tiveram uma média de idade de 60,6 \pm 14,9 anos que foi significativamente superior à média de idade dos doentes com AVC hemorrágico 53,6 \pm 11,9 anos ($p=0,035$).

Os dois grupos não diferiram relativamente ao sexo dos doentes ou factores de risco vascular. Apesar de os doentes com AVC hemorrágico terem tido valores médios de pressão arterial sistólica superiores aos indivíduos com AVC isquémico, esta

diferença não foi estatisticamente significativa. Os valores de pressão arterial diastólica diferiram de forma estatisticamente significativa entre os dois grupos.

	AVC isquêmico (n=66)	AVC hemorrágico (n=26)	P
Sexo, feminino, (%)	26 (39,4)	7 (26,9)	0,26
Idade, anos (média +/- DP)	60,6 (14,9)	53,6 (11,9)	0,035
Factores de risco vascular			
- Hipertensão arterial, (%)	33 (35,9)	15 (16,3)	0,51
- Diabetes mellitus, (%)	8 (8,7)	4 (4,3)	0,74
- Dislipidemia, (%)	20 (22,0)	5 (5,5)	0,27
- Tabagismo, (%)	26 (39,4)	9 (34,6)	0,67
- FA prévia, (%)	7 (10,6)	0 (0)	
Parâmetros vitais			
- PAS,mmHg (média+/- DP)	140,4 (23,2)	149,5 (28,0)	0,16
- PAD,mmHg (média+/- DP)	71 (15)	81 (14)	0,01
- Fc, bpm (média +/- DP)	69 (13)	65 (15)	0,33

Tabela 6 - Dados demográficos, factores de risco vascular e parâmetros vitais dos doentes com AVC isquêmico e com AVC hemorrágico; PAS – Pressão arterial sistólica, PAD – Pressão arterial diastólica. Fc – Frequência cardíaca, DP – Desvio padrão

Sete dos doentes com AVC isquémico tinham antecedentes pessoais de fibrilhação auricular. Nenhum dos doentes com AVC hemorrágico tinha antecedentes pessoais de fibrilhação auricular.

A distribuição da etiologia dos AVCs isquémicos segundo a classificação TOAST encontra-se representada na tabela 7.

Etiologia (TOAST)	Nº	%
Grandes vasos	12	18,2
Pequenos vasos	7	10,6
Cardioembólico	28	42,4
- FOP	10	
- FA	18	
Outra determinada	5	7,6
indeterminada	14	21,2

Tabela 7– Distribuição etiológica dos AVCs isquémicos segundo a classificação TOAST

Vinte e oito (42,4%) AVCs isquémicos tiveram uma etiologia cardioembólica e 38 (57,6%) não-cardioembólica. A classificação de outra etiologia determinada incluiu 4 doentes com dissecção carotídea e 1 doente com síndrome antifosfolipídica. A etiologia cardioembólica incluiu 18 doentes com fibrilhação auricular e 10 doentes

com Foramen Oval Patente. Em onze doentes com AVC isquémico foi realizado o diagnóstico de fibrilhação auricular de novo. Nos doentes com uma etiologia cardioembólica relacionada com fibrilhação auricular, em 12 doentes a FA era paroxística e em 6 permanente.

As características demográficas, factores de risco vascular e parâmetros vitais dos doentes com etiológica cardioembólica e não-cardioembólica não diferiram de forma estatisticamente significativa (tabela 8).

Não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (cardioembólico vs não-cardioembólico) relativamente à presença de dilatação da aurícula esquerda.

Em três doentes com AVC lacunar, a segunda TC-CE não mostrou alterações e não foi realizada RMN-CE, assim o número de doentes com AVC não-cardioembólico em que foi avaliada a topografia do AVC e extensão do AVC pela escala ASPECTS foi de n=38.

Os dois subgrupos AVC cardioembólico e não-cardioembólico não diferiram de forma estatisticamente significativa relativamente ao território arterial envolvido, definido como anterior ou carotídeo ou posterior ou vértebro-basilar (Tabela 9).

Apesar da ínsula estar mais frequentemente envolvida nos AVCs cardioembólicos relativamente aos não-cardioembólicos, nos dois subgrupos esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Não se verificou uma diferença estatisticamente significativa nos dois subgrupos relativamente à extensão do AVC avaliado pela escala ASPECTS.

	AVC Cardioembólico (n=28)	AVC Não- cardioembólico (n=38)	p
Sexo masculino, (%)	15 (53,6)	25 (65,8)	0,32
Idade, anos (média+/- DP)	63 (16)	59 (14)	0,24
Factores de risco vascular			
- Hipertensão arterial, (%)	12 (18,2)	21 (31,8)	0,32
- Diabetes mellitus, (%)	3 (4,5)	5 (7,6)	0,99
- Dislipidemia, (%)	8 (12,3)	12 (18,5)	0,74
- Tabagismo, (%)	16(57,1)	10(26,3)	0,60
PAS, mmHg (média+/-DP)	139(22)	141(24)	0,68
PAD, mmHg (média+/-DP)	68(12)	73(16)	0,19
Fc, bpm (média +/- DP)	70(16)	68(11)	0,65
AE dilatada	10 (38,5)	7(18,9)	0,09

Tabela 8 - Dados demográficos, factores de risco vascular e parâmetros vitais dos doentes com AVC cardioembolico e não-cardioembólico; PAS – Pressão arterial sistólica, PAD – Pressão arterial diastólica. Fc – Frequência cardíaca, DP – Desvio padrão, AE – aurícula esquerda

	AVC Cardioembólico (n=28)	AVC Não-cardioembólico (n=35)	p
Território arterial Anterior, (%)	21 (75,0)	27 (77,1)	0,84
Envolvimento da ínsula	14 (50)	11 (28,9)	0,08
ASPECTS			0,19
1	1	3	
2	3	1	
3	3	0	
4	0	0	
5	2	1	
6	2	4	
7	3	4	
8	2	4	
9	4	8	

Tabela 9 – Território arterial envolvido, envolvimento da ínsula e classificação pela escala ASPECTS nos subgrupos AVC cardioembólico e AVC não-cardioembólico

7.3. NT-proBNP

A maior parte da colheita de sangue para doseamento de NT-proBNP foi realizada 24-48 horas após instalação do AVC. Em 21 doentes (22,8%) a colheita de sangue foi efectuada nas primeiras 24 horas, em 62 doentes (67,4%) às 24-48 horas e em 9 doentes (9,8%) entre as 48-72 horas. (Gráfico 1). Não se observou uma diferença estatisticamente significativa entre os valores de NT-proBNP nos diferentes tempos de colheita de sangue ($p=0,24$).

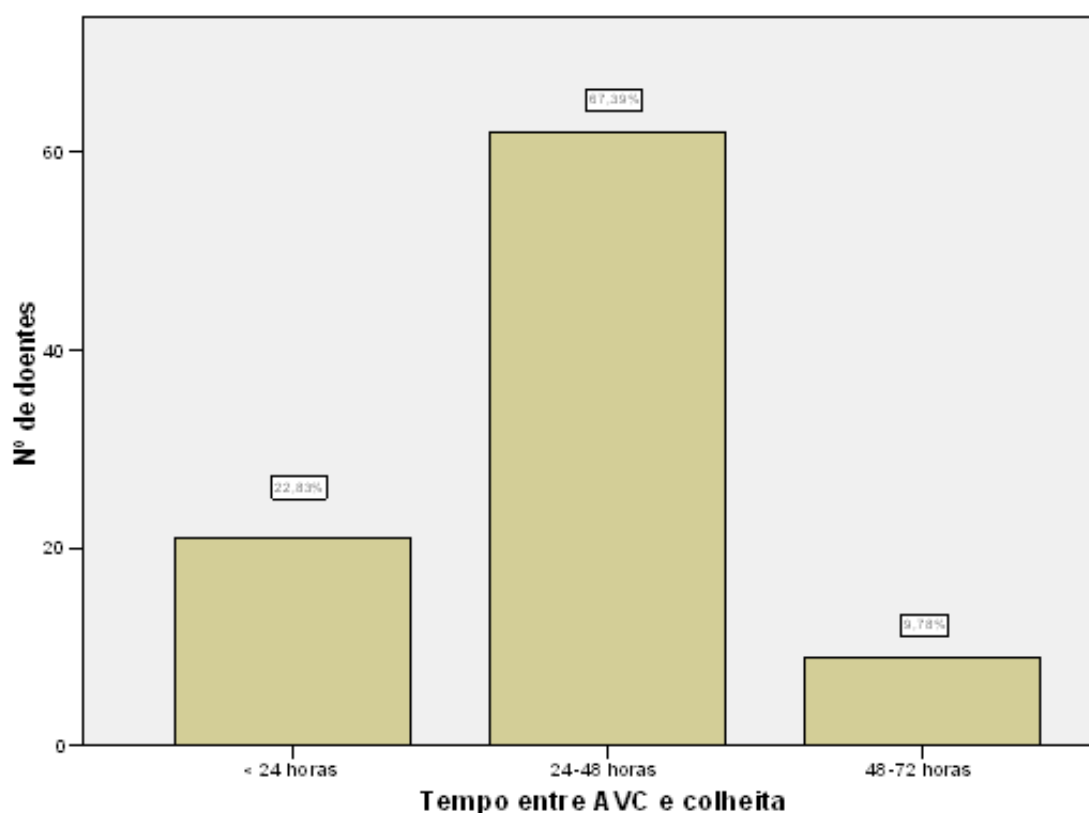


Gráfico 1 – Distribuição no tempo da colheita de sangue para doseamento de NT-proBNP ao longo das primeiras 72 horas após instalação do AVC

Ao comparar os valores de NT-proBNP obtidos com os adotados no Hospital de Santa Maria como ponto de corte para diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva (Tabela 2) verificou-se que 43 doentes (46,7%) tiveram valores superiores ao estabelecido, na ausência de evidência de doença cardíaca.

Os valores de NT-proBNP não seguiram uma distribuição normal. A distribuição foi positivamente assimétrica (Gráfico 2). Os valores variaram entre um mínimo de 8 pg/mL e um máximo de 6378 pg/mL. A mediana foi de 177,0 pg/mL.

Para que se pudessem utilizar testes paramétricos foi realizada uma transformação logarítmica. Obteve-se assim uma nova variável lnBNP, que seguia uma distribuição normal (Gráfico 3). O que se comprovou após a realização do teste de Kolmogorov-Smirnov com $p > 0.20$ e do teste de Shapiro-Wilk com $p > 0,76$.

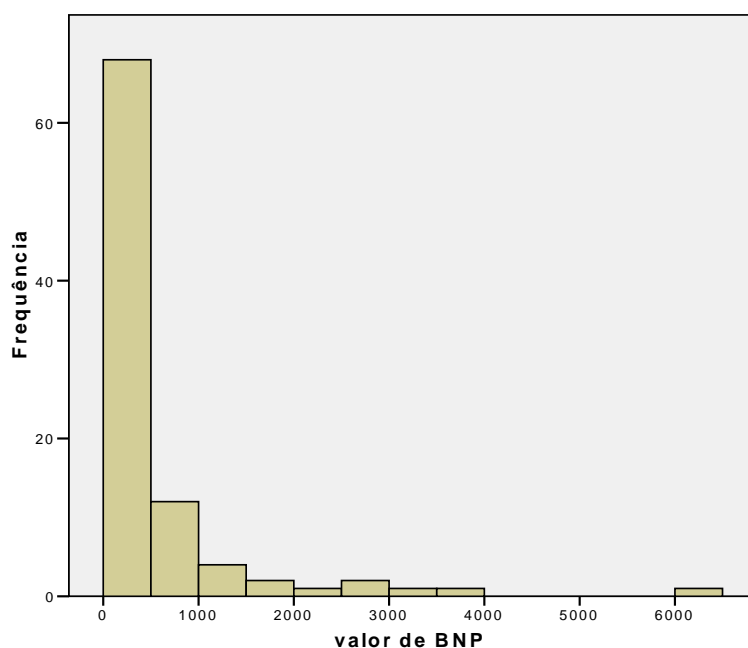


Gráfico 2 – Distribuição dos valores de NT-proBNP (pg/mL)

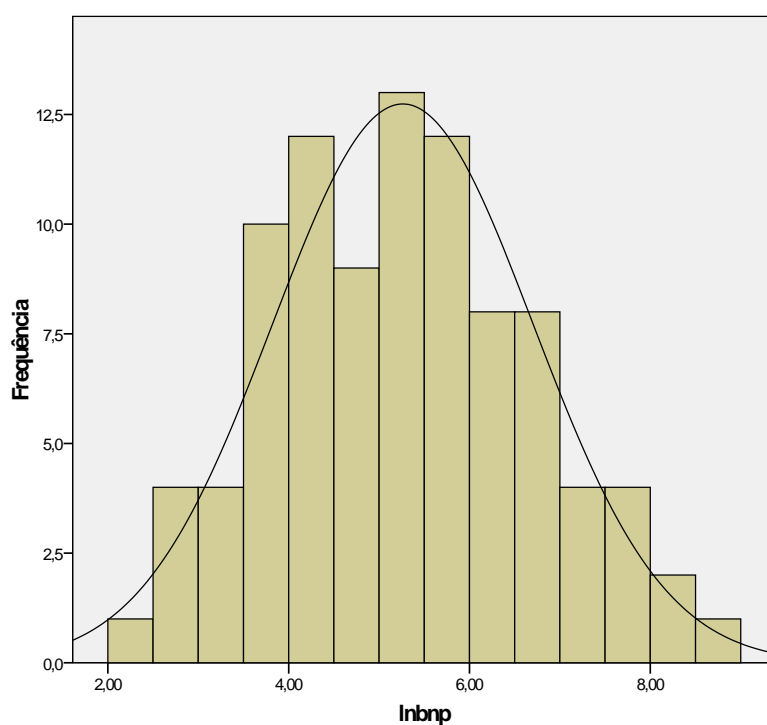


Gráfico 3- Distribuição dos valores de lnBNP

7.4. Comparação dos valores de NT-proBNP

Indivíduos com AVC hemorrágico vs AVC isquémico

A média (IC 95%) do valor de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico foi de 223,18 (157,42-316,40) pg/mL e nos doentes com AVC hemorrágico foi de 133,34 (74,13-239,82) pg/mL (gráfico 4).

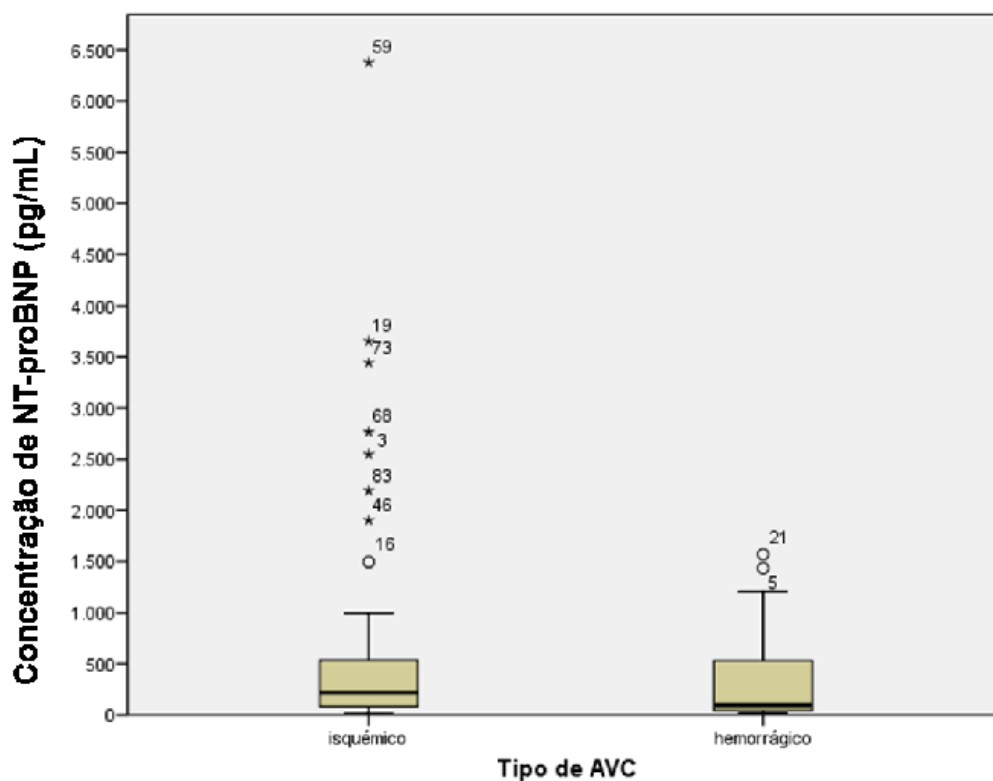


Gráfico 4- Concentração sérica de NT-proBNP nos doentes com AVC isquêmico e AVC hemorrágico

Após a aplicação do teste t-Student, apesar de os valores médios de NT-proBNP terem sido 40% mais baixos nos indivíduos com AVC hemorrágico, relativamente aos indivíduos com AVC isquêmico, não se verificou uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,12$).

Indivíduos com AVC isquêmico cardioembólico vs AVC isquêmico não-cardioembólico

A média (IC 95%) do valor de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquêmico de etiologia cardioembólica (FA+FOP) foi de 491,62 (283,67- 852,01) pg/mL e nos

indivíduos com AVC isquêmico não cardioembólico foi de 124,71 (86,31-180,22) pg/mL (gráfico 5). Esta diferença foi estatisticamente significativa com $p < 0.001$.

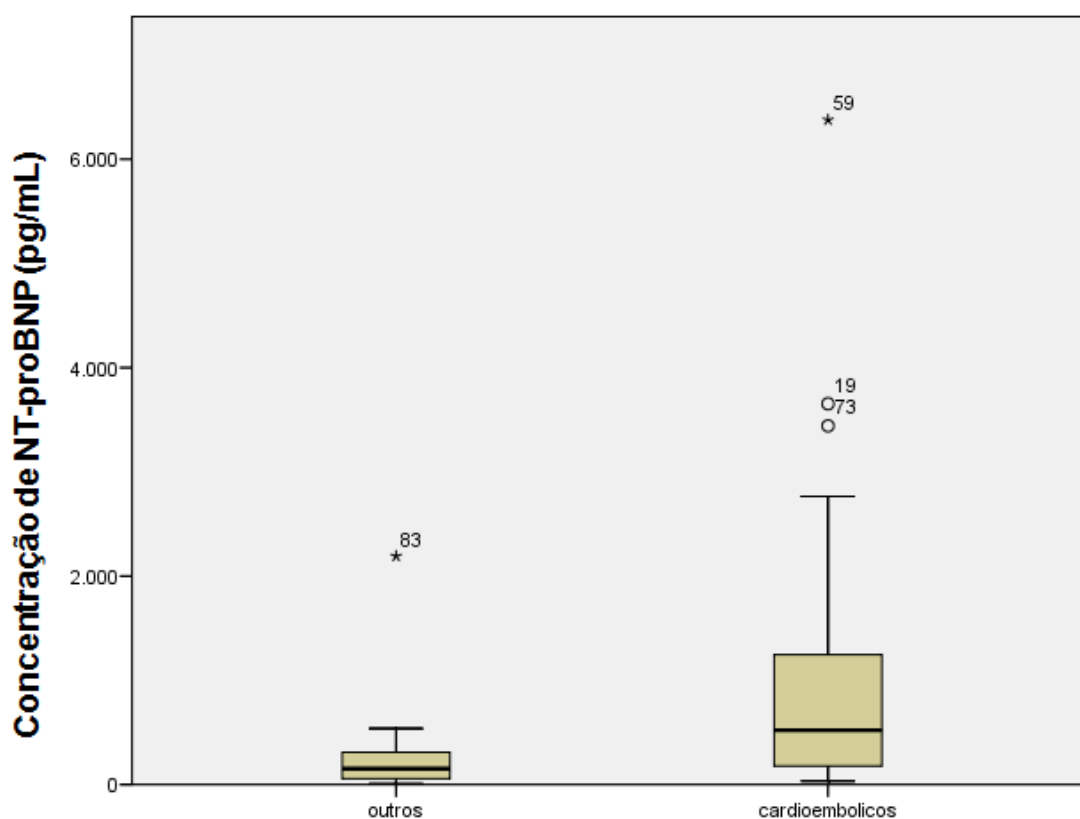


Gráfico 5 - Concentração sérica de NT-proBNP nos doentes com AVC cardioembólico e AVC não cardioembólico

Indivíduos com AVC isquêmico cardioembólico (FA) vs AVC isquêmico não-cardioembólico + FOP

Posteriormente, para avaliar o subgrupo de doentes com AVC cardioembólico associado a FA, foi comparada a média do valor de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquêmico de etiologia cardioembolica (FA) com a média nos indivíduos com outras etiologias + FOP (Gráfico 6). Os valores obtidos foram respectivamente de

1009,09 (610,57-1667,69) pg/mL e 126,74 (91,96-174,68) pg/mL. A diferença foi estatisticamente significativa com $p < 0,001$.

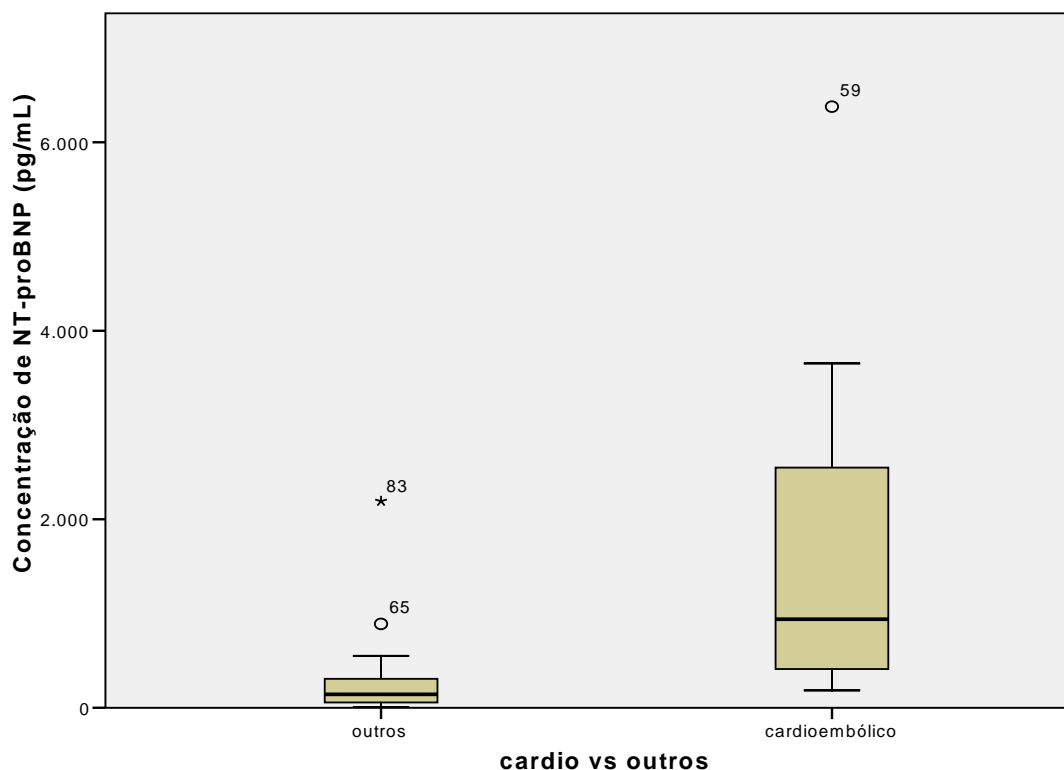


Gráfico 6 - Gráfico de bigodes representando os valores de NT-proBNP nos indivíduos com AVC cardioembólico associado a FA e AVC não cardioembólico+FOP (outros)

Quando se compararam os valores médios de NT-proBNP nos indivíduos com AVC de etiologia cardioembólica com FOP 134,73 (61,56-295,98) pg/mL versus AVC não cardioembólico - 124,71 (86,31-180,22) pg/mL, a diferença entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p=0,85$). (Gráfico 7)

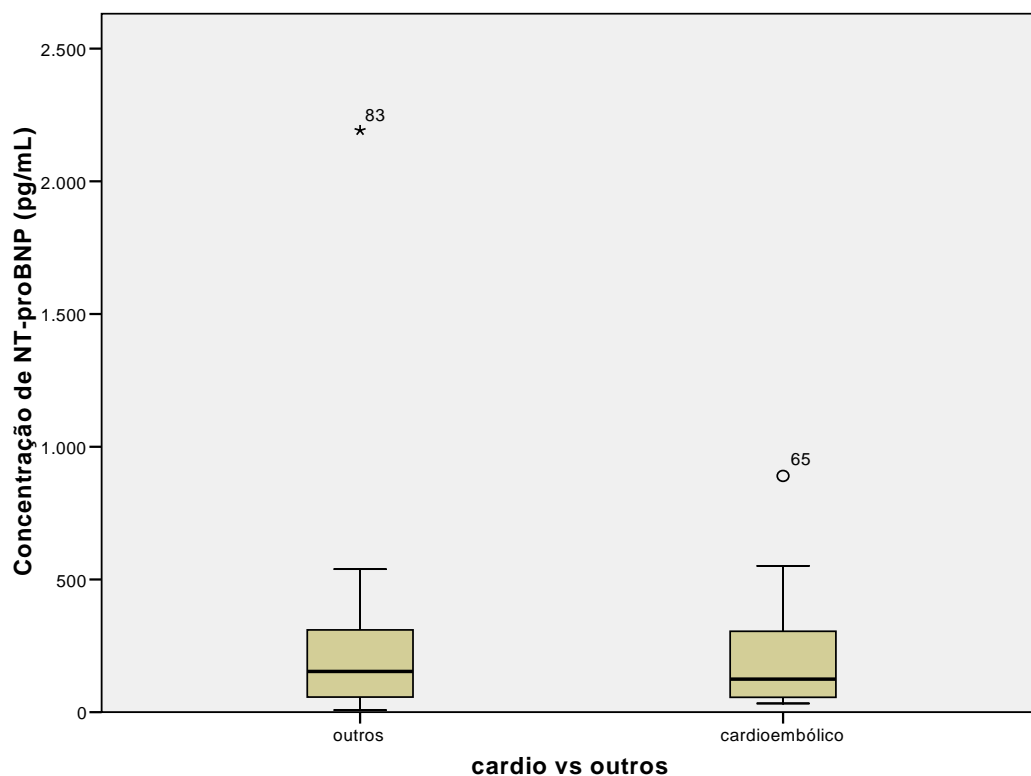


Gráfico 7 - Concentração sérica de NT-proBNP nos doentes com AVC cardioembólico (FOP) e AVC não cardioembólico

Apesar de os indivíduos com FA permanente terem tido um valor médio de NT-proBNP (1342,38; IC 95% 497,70-3604,72 pg/mL) superior aos indivíduos com FA paroxística (874,89; IC 95% 450,34-1702,75 pg/mL), esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,41$).

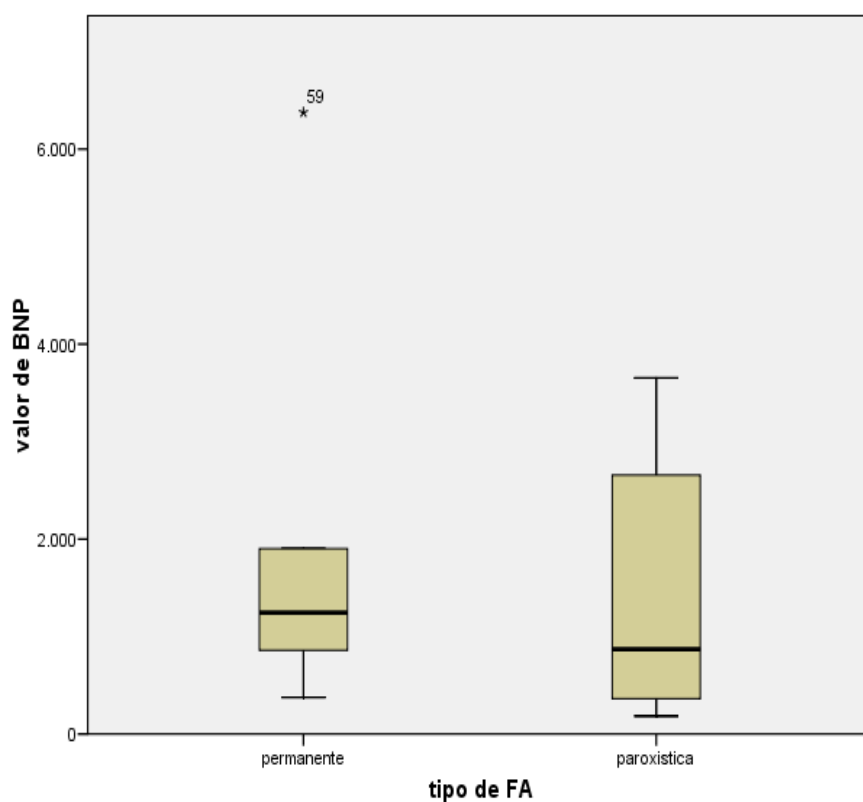


Gráfico 8 – Concentração sérica de NT-proBNP nos indivíduos com FA permanente e FA paroxística

7.5. Determinação de curvas ROC

A curva ROC obtida quando se pretendeu determinar a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC isquémico de etiologia cardioembólica (FA + FOP) está representada no gráfico 9. Obteve-se uma área abaixo da curva de $0,77 \pm 0,06$.

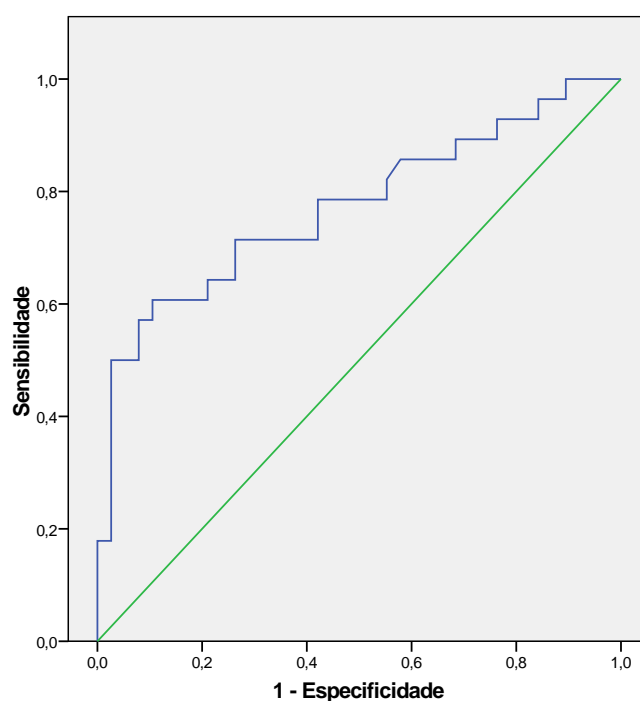


Gráfico 9 – Curva ROC ilustrando a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC cardioembólico (FA + FOP)

O valor de NT-proBNP estabelecido como ponto de corte com a maior especificidade e sensibilidade foi 265,50 pg/mL, a que se associou uma sensibilidade de 71,4%, uma especificidade de 73,7%, um valor preditivo negativo de 77,8% e um valor preditivo positivo de 66,6%.

Para determinar a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC isquêmico de etiologia cardioembólica associado a FA obteve-se a curva ROC representada no gráfico 10.

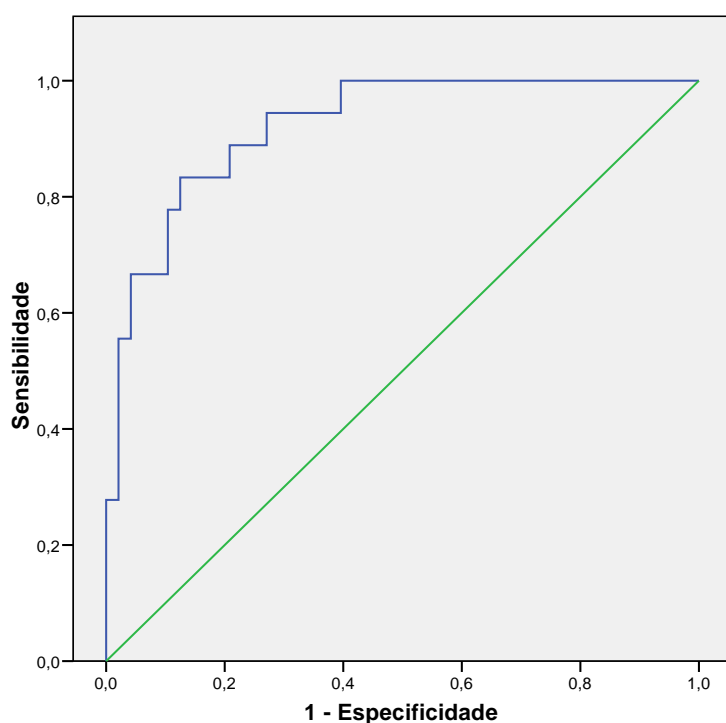


Gráfico 10 – Curva ROC ilustrando a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC cardioembólico associado a FA

Obteve-se uma área abaixo da curva de $0,92 \pm 0,03$. Da análise desta curva obtiveram-se dois pontos de corte (Tabela 10):

- O ponto de corte de 265,50 pg/mL com uma sensibilidade de 94,4% e uma especificidade de 72,9%, associado a um valor preditivo positivo de 56,6% e um valor preditivo negativo de 97,2%
- O ponto de corte de 912,0 pg/mL com uma sensibilidade de 55,5%, especificidade de 97,9%, valor preditivo positivo de 90,9% e valor preditivo negativo de 83,9%.

<i>Ponto de corte (pg/mL)</i>	<i>Sensibilidade (%)</i>	<i>Especificidade (%)</i>	<i>VPP (%)</i>	<i>VPN (%)</i>
265,5	94,4	72,9	56,6	97,2
912,0	55,5	97,9	90,9	83,9

Tabela 10 – Pontos de corte determinados a partir da curva ROC de AVC associado a FA; VPP – Valor preditivo positivo, VPN – valor preditivo negativo

Na curva ROC para avaliar a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC cardioembólico associado a FOP obteve-se uma área sobre a curva de 0,50+/- 0,11. (Gráfico 11)

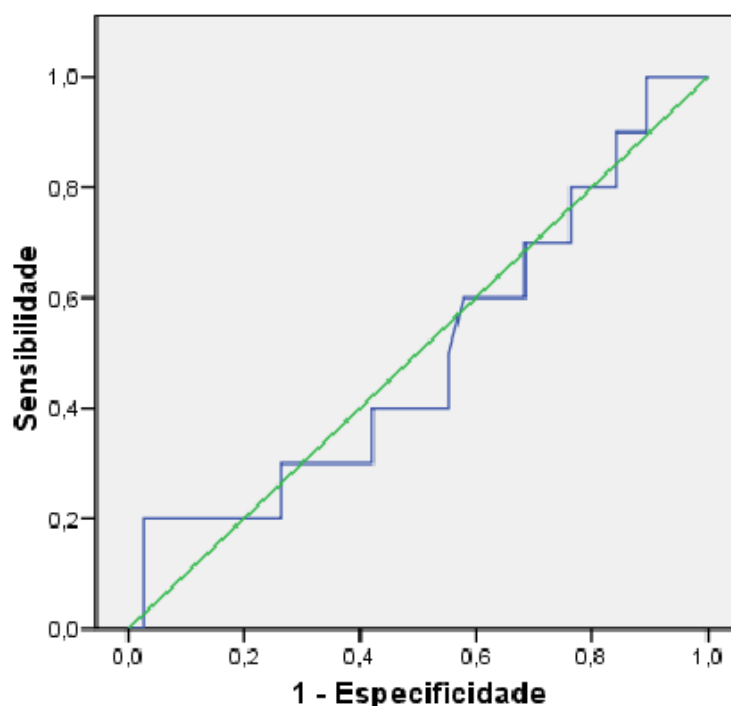


Gráfico 11 – Curva ROC ilustrando a capacidade do NT-proBNP para diagnosticar AVC cardioembólico associado a FOP

7.6. Avaliação da associação entre os valores de NT-proBNP e a topografia do AVC

A média dos valores de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquêmico no território carotídeo ou anterior (n=48) foi de 275,88 (IC 95% 179,47-419,89) pg/mL, enquanto que a média dos valores nos indivíduos com AVC localizado no território vertebro-basilar ou posterior (n=15) foi de 138,38 (74,44-259,82). Esta diferença não foi estatisticamente significativa (p=0,10) (Gráfico 12).

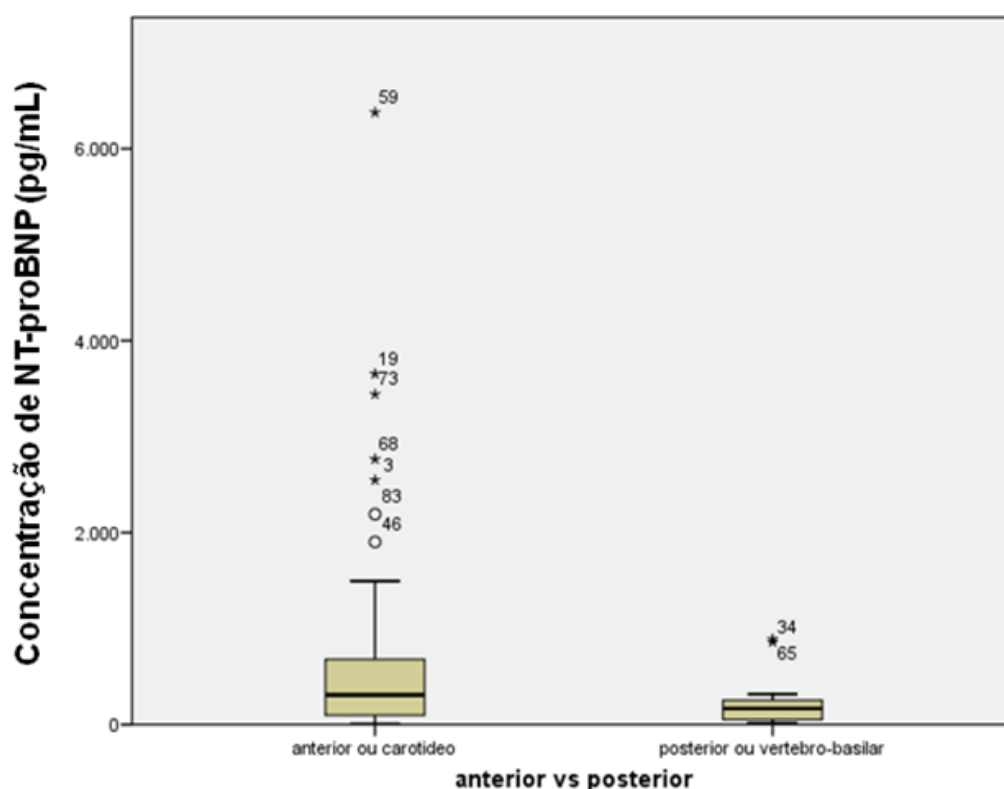


Gráfico 12 - Concentração sérica de NT-proBNP nos indivíduos com AVC localizado no território anterior/carotídeo vs posterior/vertebro-basilar

7.7. Avaliação da associação entre os valores de pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, frequência cardíaca média e valores séricos de NT-proBNP

Após a realização de uma análise de regressão linear simples não se verificou uma relação linear significativa entre o valor de NT-proBNP e os valores de pressão arterial sistólica ($p=0,091$) ou diastólica ($p=0,26$). Verificou-se uma relação linear significativa entre a frequência cardíaca ($p=0,039$) e os valores de NT-proBNP com um coeficiente de regressão de 0,025 pg/mL/bpm.

7.8. Extensão do AVC (Escala ASPECTS) e valores de NT-proBNP

Após a realização de uma análise de correlação de Kendall não se verificou uma associação estatisticamente significativa entre a extensão do AVC avaliada pela escala ASPECTS e os valores séricos de NT-proBNP ($p=0,11$).

7.9. Características ecocardiográficas

Sessenta e seis doentes realizaram um ecocardiograma transtorácico e 16 doentes ecocardiograma transesofágico. Sete doentes com AVC hemorrágico e 3 doentes com AVC isquémico, sem evidência clínica de patologia cardíaca não realizaram ecocardiograma.

Em nenhum doente foi detectada a presença de trombos intracardíacos ou autocontraste na aurícula esquerda.

Em 20 doentes foi detectada uma aurícula esquerda dilatada, comparativamente a 62 doentes sem aurícula esquerda dilatada. Verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o valor de NT-proBNP nos indivíduos com aurícula esquerda dilatada (398,70 IC 95% 195,84-811,67) e aurícula esquerda não dilatada (161,61 IC 95% 114,51-228,06) ($p=0,014$).

8. Discussão

Em cerca de 30 a 40 % dos AVC isquémicos não é possível determinar uma etiologia. Tal acontece frequentemente mesmo após uma investigação clínica exaustiva. É possível que uma fracção destes AVCs, denominados de criptogénicos, ocorra após um episódio de fibrilhação auricular paroxística, que não foi documentado. Uma vez que estes doentes se encontram durante a maior parte do tempo em ritmo cardíaco sinusal, sendo indefinido quando acontecerá um novo episódio de fibrilhação auricular, os electrocardiogramas, registos de Holter de 24h a 72h ou monitorizações com duração de dias podem nunca registar um episódio de fibrilhação auricular.

A correcta identificação de uma etiologia cardioembolica nestes doentes é importante, uma vez que foi demonstrado que os doentes com FA beneficiam de uma terapêutica anticoagulante vs antiagregante. Não seria vantajoso anticoagular todos os doentes com AVC criptogénico uma vez que provavelmente várias etiologias estão presentes neste subgrupo e foi demonstrado que noutros subgrupos, que não o cardioembolico, o risco de hemorragia no contexto de anticoagulação ultrapassa o seu possível benefício ³. No ensaio WASSID, realizado com o objectivo de comparar a eficácia profilática para AVC da varfarina ou aspirina em doentes com estenose sintomática de uma grande artéria intracraniana, verificou-se uma associação da varfarina a maior número de efeitos adversos, sem se ter verificado benefício, relativamente à aspirina. Este ensaio teve mesmo de ser

terminado precocemente devido a preocupações relativamente à segurança dos doentes que tinham recebido varfarina¹⁵.

Assim, torna-se necessário equacionar formas alternativas de detectar uma etiologia cardioembólica e nomeadamente uma fibrilhação auricular. O ideal seria determinar um marcador directamente relacionado com o evento, que permanecesse presente durante algum tempo após.

Em estudos anteriores, foi demonstrado um aumento das concentrações séricas de BNP durante a fase aguda do AVC isquémico, quando comparados com as de controlos e com os pontos de corte estabelecidos para insuficiência cardíaca.

Sabe-se que o NT-proBNP que é um peptídeo produzido a nível cardíaco e cerebral se encontra elevado no contexto de insuficiência cardíaca e doença cardíaca isquémica, estando a utilidade clínica deste peptídeo ligada actualmente à identificação e estabelecimento de um prognóstico destes eventos. De entre as causas descritas de elevação do NT-proBNP encontra-se a fibrilhação auricular.

Neste trabalho pretendeu-se verificar a hipótese de que o aumento dos níveis séricos do NT-proBNP no AVC isquémico teria uma origem cardíaca auricular, podendo ser utilizado como um marcador de AVC isquémico de etiologia cardioembólica.

Assim, foi desenhado um estudo prospectivo em que foram incluídos doentes com AVC isquémico e hemorrágico, internados no Serviço de Neurologia a partir do Serviço de Urgência.

Para diminuir possíveis factores de confundimento, foram excluídos, deste estudo, doentes com causas conhecidas de aumento de NT-proBNP, nomeadamente com

insuficiência cardíaca congestiva, patologia cardíaca isquémica, patologia valvular. Para tal foram utilizados não só critérios clínicos, mas também os dados obtidos através da avaliação ecocardiográfica. Muitas destas condições são prevalentes nos indivíduos com doença cerebrovascular, não só por terem factores de risco comuns, mas também por poderem ser factores etiológicos de AVC isquémico. Neste estudo, cerca de 32% dos doentes excluídos tinham uma destas patologias cardíacas. O número de possíveis fontes cardioembólicas foi assim restringido, tendo sido detectadas neste estudo duas fontes possíveis – fibrilhação auricular não valvular e foramen oval patente. Contudo, esta não foi verdadeiramente uma limitação do estudo, porque é precisamente neste grupo de doentes que o diagnóstico de uma possível etiológica cardioembólica é mais difícil de estabelecer, em que a avaliação cardíaca é muitas vezes normal e em que existe maior necessidade de obter meios alternativos de diagnóstico. Na prática clínica, a identificação das causas excluídas como factor etiológico é mais fácil uma vez que estão relacionadas maioritariamente com alterações estruturais detectáveis por ecocardiograma.

Apesar dos critérios de exclusão, a distribuição das etiologias dos AVC isquémico, neste estudo, foi ligeiramente superior à reportada em séries anteriores ⁸².

Ao analisar os resultados, verificou-se um aumento do valor de NT-proBNP em 43% dos doentes com AVC, apesar de terem sido excluídas as principais causas de elevação de NT-proBNP.

Ao comparar o valor médio de NT-proBNP nos indivíduos com AVC isquémico vs AVC hemorrágico, verificou-se que a média dos valores de NT-proBNP foi superior

nos indivíduos com AVC isquémico, contudo a diferença não foi estatisticamente significativa. Tal poderá dever-se a um baixo poder estatístico.

Quando se compararam os valores médios da concentração sérica de NT-proBNP nos indivíduos com AVC de etiologia cardioembólica vs AVC de outras etiologias verificou-se que os valores médios de NT-proBNP eram superiores nos indivíduos com AVC cardioembólico, sendo esta diferença estatisticamente significativa.

Uma vez que se verificou que os doentes com AVC de etiologia cardioembólica tinham valores médios de NT-proBNP superiores aos dos indivíduos com AVC não-cardioembólico, procurou-se determinar através de uma curva ROC qual a capacidade do peptídeo para diagnosticar AVC cardioembólico. Obteve-se uma área sob a curva de $0,77 \pm 0,06$, o que significa que o peptídeo teria uma boa capacidade para diagnosticar AVC de etiologia cardioembólica.

Tendo em consideração que uma das possíveis causas de aumento de NT-proBNP é a ocorrência de fibrilhação auricular, foi determinada uma curva ROC para avaliar a capacidade do peptídeo para diagnosticar AVC cardioembólico associada a fibrilhação auricular. Obteve-se assim uma curva ROC com uma área abaixo da curva de $0,92 \pm 0,03$. Estes resultados sugerem que este peptídeo se associa a uma excelente capacidade de diagnóstico de AVC associado a fibrilhação auricular, sendo assim útil para diferenciar a etiologia cardioembólica devida a fibrilhação auricular de outras etiologias. A partir da análise da curva ROC foi obtido um ponto de corte de 265,5 pg/mL de NT-proBNP a que corresponde uma sensibilidade de 94,4 % e uma especificidade de 72,9 % para o diagnóstico de AVC cardioembólico associado a FA. No contexto de tomada de decisão clínica é mais importante a

definição de um valor preditivo negativo e/ou positivo. Ao ponto de corte referido correspondeu um valor preditivo negativo de 97,2%. Contudo, o mais importante seria o estabelecimento de um diagnóstico positivo. Seria mais útil que o biomarcador em questão tivesse um elevado valor preditivo positivo, uma vez que é o resultado positivo que conduz a uma alteração da conduta médica e ao início de uma terapêutica anticoagulante.

Através da curva ROC para AVC cardioembólico associado a FA obteve-se um outro ponto de corte de 912,0 pg/mL a que se associou um valor preditivo positivo de 90,9%. Se este valor de ponto de corte se confirmasse, a obtenção de um valor sérico de NT-proBNP superior a 912,0 pg/mL num doente com AVC isquémico conduziria a uma maior suspeição da presença de fibrilhação auricular nestes doentes e justificaria uma maior vigilância e intensificação de exames para documentar electrofisiologicamente a fibrilhação auricular. O biomarcador em causa poderia eventualmente ser utilizado num algoritmo diagnóstico. Para validar os resultados agora obtidos seria necessário realizar um novo estudo numa coorte diferente com um maior número de doentes, utilizando os valores estabelecidos como ponto de corte. Poder-se-ia eventualmente aumentar o valor preditivo deste biomarcador para o diagnóstico de AVC cardioembólico associado a FA se se adicionassem ao modelo dados clínicos ou de imagiologia. Montaner ⁶¹ para aumentar o valor preditivo do NT-proBNP para diagnóstico de AVC cardioembólico sugeriu avaliá-lo em associação com os valores dos D-dímeros.

É importante ainda destacar que não se verificou uma diferença estatisticamente significativa nos valores médios de concentração de NT-proBNP nos indivíduos com FA paroxística vs FA permanente. Este resultado sugere que o peptídeo será útil

para o diagnóstico destas duas formas de apresentação temporal de fibrilhação auricular.

No estudo realizado por Montaner⁶¹ foi indicado que um valor de NT-proBNP > 76 pg/mL indicava uma etiologia cardioembólica com uma sensibilidade de 72%, uma especificidade de 69% e um valor preditivo negativo de 82%. Existem diversas explicações possíveis para a diferença de ponto de corte estabelecido no estudo de Montaner e neste. Um dos motivos poderá estar relacionado com a inclusão de doentes com patologia cardíaca ou insuficiência renal, factores que influenciam os valores de NT-proBNP. Outro motivo para a diferença de valores poderá estar relacionado com o tempo de colheita do NT-proBNP nos dois estudos. No estudo de Montaner a colheita de NT-proBNP foi efectuada nas primeiras 24 horas, após o início de sintomas do AVC. Neste estudo, a colheita de sangue para doseamento do peptídeo foi efectuada ao longo de 72 horas (apesar da maior parte da colheita ter sido efectuada nas primeiras 24-48 horas). A possibilidade de existir uma janela temporal alargada para colher sangue para doseamento do peptídeo é importante porque uma fracção significativa dos doentes não recorre ao hospital nas primeiras 24 horas após instalação de sintomas⁸⁹. Os dados existentes na literatura são discordantes relativamente ao dia em que é atingido o valor máximo da concentração sérica do NT-proBNP no contexto de um AVC isquémico. No estudo de Giannakalos³², não se verificou uma diferença estatisticamente significativa entre o primeiro e o sexto dia após instalação de sintomas, no de Jensen⁴³, verificou-se um pico no segundo dia após a instalação de sintomas, com uma diminuição progressiva dos valores até ao quinto dia e no estudo de Itumur, os valores mais elevados de NT-proBNP foram registados no dia de instalação do AVC. Será assim

necessário definir futuramente o perfil temporal de elevação do NT-proBNP, de forma a determinar qual a melhor altura para realizar a colheita de sangue para doseamento do peptídeo.

Para a curva ROC de diagnóstico de AVC cardioembólico associado a FOP obteve-se uma área abaixo da curva de 0,50, o que indica que o NT-proBNP não tem utilidade para o diagnóstico desta alteração. Foram propostos diversos mecanismos possíveis através dos quais o FOP poderia desencadear um AVC isquémico: a) alterar a actividade eléctrica da aurícula esquerda, contribuindo para uma maior susceptibilidade para ocorrência de disritmias ⁷, b) contribuir para a formação de um trombo no interior do foramen ⁵⁷, ou c) actuar como um local de passagem direito-esquerdo para um embolo com origem periférica, contribuindo assim para uma embolia paradoxal ⁹. Admitindo que o principal mecanismo responsável pelo AVC isquémico num doente com FOP é um embolismo paradoxal e que o coração actua nestas situações como um local de passagem do êmbolo, não existindo alteração da actividade cardíaca, se admitirmos uma origem cardíaca do NT-proBNP no AVC isquémico não parece existir razão para o aumento de NT-proBNP nestes doentes. Este dado poderia ser assim a favor de uma origem cardíaca do NT-proBNP no AVC isquémico.

Verificou-se que os doentes com uma aurícula esquerda dilatada tinham valores médios de NT-proBNP superiores às dos indivíduos com aurícula esquerda não dilatada, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Este resultado está de acordo com anteriores que identificam a dilatação da aurícula esquerda como um factor de risco aumentado para embolismo em doentes com FA

Dado que os AVC cardioembólicos cursam geralmente com um volume de enfarte superior à de AVC com outras etiologias e uma vez que uma das causas possíveis de elevação de NT-proBNP seria uma produção cerebral, foi também avaliado se existiria uma associação entre o valor médio da concentração sérica de NT-proBNP e a extensão do AVC, avaliada indirectamente pela escala ASPECTS. Após uma análise de correlação de Kendall não se verificou uma associação, o que constitui um argumento a favor da origem cardíaca do NT-proBNP.

Quando se estudou uma possível associação entre a topografia do AVC definido como anterior/carotídeo ou posterior/vertebrobasilar não se verificou uma associação estatisticamente significativa.

Uma das hipóteses apontadas para a elevação do peptídeo durante a fase aguda do AVC isquémico era uma resposta ao aumento de adrenalina e noradrenalina verificados durante a fase aguda do AVC. Para avaliar esta hipótese foram utilizados neste estudo marcadores indirectos da resposta adrenérgica como os valores da pressão arterial sistólica, diastólica e frequência cardíaca, tendo-se determinado a média de três medições ao longo de um período de 24 horas. Não se verificou uma associação entre os valores de pressão arterial sistólica e diastólica e os valores de NT-proBNP. Entre a frequência cardíaca e os valores de NT-proBNP verificou-se uma associação estatisticamente significativa, mas associada a um coeficiente de regressão de 0,025 pg/mL/bpm. Estes dados não são sugestivos de existir uma associação entre os valores de NT-proBNP e activação adrenérgica. Porém, este não é o método ideal para avaliar a activação adrenérgica. Para se estudar mais exhaustivamente esta possível associação poder-se-iam adoptar outras formas de

estudo de activação do sistema adrenérgico, nomeadamente doseamento urinário de metanefrinas e estudo dos intervalos R-R´.

Este estudo tem diversas limitações. Entre elas, encontram-se a modesta amostra de doentes, para o qual contribuíram os critérios de exclusão utilizados, mas que eram necessários para excluir possíveis factores de confundimento para a elevação do NT-proBNP. Outra limitação está relacionada com a utilização de imagem de TC-CE para avaliar a extensão e localização do AVC. O ideal seria utilização imagem de ressonância magnética com maior sensibilidade para detectar alterações compatíveis com isquémia. Outro ponto já discutido anteriormente é o período relativamente prolongado no tempo em que ocorreu a colheita de sangue, que poderá contribuir eventualmente para alguns resultados falsamente negativos. Neste estudo consideraram-se como cardioembólicos, os AVCs em que foi detectada um FA, não tendo sido detectada uma outra causa. Porém, a fibrilhação auricular poderá não estar na origem do AVC e surgir como uma consequência deste, uma vez que é a disritmia que surge mais frequentemente na sequência de um AVC. Contudo, a descoberta de uma fibrilhação auricular, no contexto de um AVC isquémico, determina o início de uma terapêutica profilática secundária anticoagulante. Os AVC associados a FA recorrem em 80% dos casos como cardioembólicos.

Os resultados obtidos, neste estudo, sugerem que o aumento dos níveis séricos de NT-proBNP durante a fase aguda do AVC isquémico tem uma origem cardíaca. O NT-proBNP teve uma capacidade muito boa para diagnosticar AVC de etiologia cardioembólica associada a FA, podendo ser útil no estudo etiológico dos AVCs

isquémicos. Foi possível, a partir da análise dos resultados, obter dois pontos de corte associado a um elevado valor preditivo negativo e positivo.

É necessário realizar estudos futuros em coortes diferentes com um maior número de doentes, para validar os pontos de corte estabelecidos. É também necessário identificar possíveis fontes de variação do peptídeo e nomeadamente estabelecer o perfil de evolução temporal do NT-proBNP após um AVC isquémico. A decisão de intervir ou não com base no resultado obtido a partir do biomarcador, tem de ter em conta as fontes de variação do biomarcador, sendo necessário compreender o seu significado.

O NT-proBNP poderá ser um biomarcador clinicamente útil, funcionando como um elemento de diagnóstico adicional. Elementos adicionais que favorecem a sua utilização são a rápida acessibilidade a este exame e o seu baixo custo.

Este estudo foi desenhado num cenário semelhante ao presente na prática clínica, utilizando directamente doentes com AVC. A sua aplicação directamente no contexto de uma enfermaria sugere que é viável e exequível utilizar este peptídeo na prática clínico para auxiliar no diagnóstico de AVC cardioembólico.

9. Conclusão

Os resultados sugerem que o aumento da concentração sérica de NT-proBNP que ocorre no contexto do AVC tem uma origem cardíaca.

Os doentes com AVC isquémico cardioembólico tiveram concentrações médias de NT-proBNP superiores às dos doentes com AVC isquémico não-cardioembólico, tendo esta diferença sido estatisticamente significativa.

O NT-proBNP parece ter uma capacidade muito boa para diagnosticar AVC cardioembólico associado a fibrilhação auricular permanente ou paroxística.

Não foi encontrada uma associação entre a concentração sérica de NT-proBNP e a extensão do AVC, localização ou pressão arterial.

Foi encontrada uma associação linear significativa, associada a um baixo coeficiente de correlação (0,025 pg/mL/bpm) entre a frequência cardíaca e a concentração sérica de NT-proBNP

10. Referências bibliográficas

- (1) Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE: Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke 1993;24:35-41.
- (2) Ako K, Harmsen P, Hatano S, Marquardsen J, Smirnov VE, Strasser T. Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study. Bull World Health Organ 1980;58:113-130.
- (3) Algra A: Medium intensity oral anticoagulants versus aspirin after cerebral ischaemia of arterial origin (ESPRIT): a randomised controlled trial. Lancet Neurol 2007;6:115-124.
- (4) Altar CA. The Biomarkers Consortium: on the critical path of drug discovery. Clin Pharmacol Ther 2008;83:361-364.
- (5) Anand IS, Fisher LD, Chiang YT, Latini R, Masson S, Maggioni AP, Glazer RD, Tognoni G, Cohn JN; Val-HeFT Investigators. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). Circulation 2003;107:1278-1283.

- (6) Berendes E, Walter M, Cullen P, Prien T, van Aken H, Horsthemke J, Schulte M, von Wild K, Scherer R. Secretion of brain natriuretic peptide in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Lancet* 1997; 349:245–249.

- (7) Berthet K, Lavergne T, Cohen A, Guize L, Bousser MG, Heuzey JY, Amarenco P. Significant Association of Atrial Vulnerability With Atrial Septal Abnormalities. *Stroke* 2000;31:398-403.

- (8) Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:89-95.

- (9) Bogousslavsky J, Garazi S, Jeanrenaud X, Aebischer N, Van Melle G. Stroke recurrence in patients with patent foramen ovale: the Lausanne Study. Lausanne Stroke with Paradoxal Embolism Study Group. *Neurology* 1996;46:1301-1305.

- (10) Bruneau BG, Piazza LA, d Bold AJ. Alpha 1-adrenergic stimulation of isolated rat atria results in discoordinate increases in natriuretic peptide secretion and gene expression and enhances Egr-1 and c-Myc expression. *Endocrinology* 1996;137:137-143.

- (11) Cairns JA, Connolly SJ. Nonrheumatic atrial fibrillation: risk of stroke and role of antithrombotic therapy. *Circulation* 1991;84:469-481.
- (12) Caplan, LR, Manning, W (Eds). *Brain embolism*, Informa Healthcare, New York 2006; 129-159.
- (13) Castellanos M, Serena J. Applicability of biomarkers in ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2007;24 Suppl 1:7-15.
- (14) Chien TI, Chen HH, Kao JT. Comparison of Abbott AxSYM and Roche Elecsys 2010 for measurement of BNP and NT-proBNP. *Clin Chim Acta* 2006;369:95-99.
- (15) Chimowitz MI, Lynn MJ, Howlett-Smith H, Stern BJ, Hertzberg VS, Frankel MR, Levine SR, Chaturvedi S, Kasner SE, Benesch CG, Sila CA, Jovin TG, Romano JG;Warfarin-Aspirin Symptomatic Intracranial Disease Trial Investigators. Comparison of warfarin and aspirin for symptomatic intracranial arterial stenosis. *N Engl J Med* 2005;352:1305-1316.
- (16) Coutts SB, Demchuk AM, Barber PA, Hu WY, Simon JE, Buchan AM, Hill MD; VISION Study Group. interobserver variation of ASPECTS in real time. *Stroke* 2004;35:e103-105.

- (17) D'Sousa SP, Davis M, Baxter GF. Autocrine and paracrine actions of natriuretic peptides in the heart. *Pharmacol Ther* 2004;101:113-129.
- (18) Daniels LB, Maisel A. Natriuretic peptides 2007. *Journal of the American College of Cardiology* 2007;50:2357-68.
- (19) Daniels LB, Allison MA, Clopton P, Redwine L, Siecke N, Taylor K, Fitzgerald R, Bracker M, Maisel AS. Use of natriuretic peptides in pre-participation screening of college athletes. *Int J Cardiol* 2008;124:411-444.
- (20) Daniel WG. Should transesophageal echocardiography be used to guide cardioversion? *N Engl J Med* 1993;328:803-804.
- (21) de Bruijn SF, Agema WR, Lammers GJ, van der Wall EE, Wolterbeek R, Holman ER, Bollen EL, Bax JJ. Transesophageal echocardiography is superior to transthoracic echocardiography in management of patients of any age with transient ischemic attack or stroke. *Stroke* 2006;37:2531-2534.
- (22) Di Angelantonio E, De Castro S, Toni D, Sacchetti ML, Biraschi F, Prencipe M, Fiorelli M: Determinants of plasma levels of brain natriuretic peptide after acute ischemic stroke or TIA. *J Neurol Sci* 2007;260:139-142.

- (23) Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, Glasziou P. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure: systematic review. *BMJ* 2005;330:625.
- (24) EAFT (European Atrial Fibrillation Trial) Study Group: Secondary prevention in non-rheumatic atrial fibrillation after transient ischaemic attack or minor stroke. *Lancet* 1993;342:1255-1262.
- (25) Etgen T, Baum H, Sander K, Sander D: Cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in acute ischemic stroke do not relate to clinical prognosis. *Stroke* 2005;36:270-275.
- (26) European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack 2008. *Cerebrovasc Dis* 2008;25:457-507.
- (27) Ferro JM. Patterns of ischaemic cerebral diseases. *J Neurol*. 2004;25:1-10.
- (28) Fieschi C, Argentino C, Lenzi GL, Sacchetti ML, Toni D, Bozzao L. Clinical and instrumental evaluation of patients with ischemic stroke within the first six hours. *J Neurol Sci* 1989;91:311-321.

- (29) Gartner W, Zierhut B, Mineva I, Sodeck G, Leutmezer F, Domanovits H, Prayer D, Wolf F, Base W, Weissel M, Wagner L. Brain natriuretic peptide correlates with the extent of atrial fibrillation-associated silent brain lesions. Clin Biochem. 2008 ;41:1434-1439.
- (30) Gerbes AL, Dagnino L, Nguyen T, Nemer M. Transcription of brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide genes in human tissues. J Clin Endocrinol Metab 1994;78:1307-1311.
- (31) Gerber IL, Stewart RA, French JK, Legget ME, Greaves SC, West TM, Kerr AJ, Richards AM, White HD. Association between plasma natriuretic peptide levels, symptoms, and left ventricular function in patients with chronic aortic regurgitation. Am J Cardiol 2003;92:755-758.
- (32) Giannakoulas G, Hatzitolios A, Karvounis H, Koliakos G, Charitandi A, Dimitroulas T, Savopoulos C, Tsirogianni E, Louridas G: N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels are elevated in patients with acute ischemic stroke. Angiology 2005;56:723-730.
- (33) González-Buitrago JM, Ferreira L, Muñiz MC. Clinical proteomics and new biomarkers in biological fluids. Med Clin (Barc). 2008;131:426-434.

- (34) Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, Masuda I, Nakanishi K, Yoshimasa T, Hashimoto Y. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92:1558-1564.
- (35) Hart RG, Halperin JL, Pearce LA, Anderson DC, Kronmal RA, McBride R, Nasco E, Sherman DG, Talbert RL, Marler JR; Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Lessons from the Stroke Prevention in Atrial Fibrillation trials. *Ann Intern Med* 2003;138: 831-838.
- (36) Haug C, Metzele A, Kochs M, Hombach V, Grunert A. Plasma brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide concentrations correlate with left ventricular end-diastolic pressure. *Clin Cardiol* 1993;16:553-557.
- (37) Hohnloser SH, Crijns HJ, van Eickels M, Gaudin C, Page RL, Torp-Pedersen C, Connolly SJ; ATHENA Investigators. Effect of dronedarone on cardiovascular events in atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009;360:668-678.
- (38) Holloway R, Benesch CG, Rahilly CR, Caryn E. A Systematic Review of Cost-Effectiveness Research of Stroke Evaluation and Treatment. *Stroke* 1999;30:1340-1349

- (39) Iadecola C, Goldman SS, Harder DR, Heistad DD, Katusic ZS, Moskowitz MA, Simard JM, Sloan MA, Traystman RJ, Velletri PA. Recommendations of the National Heart, Lung, and Blood Institute working group on cerebrovascular biology and disease. *Stroke* 2006;37:1578-1581.
- (40) Itumur K, Yavavli A, Apak I, Ariturk Z, Toprak N: Elevated plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in acute ischemic stroke. *Am Heart J*. 2006;151:1115-1122.
- (41) Jabaudon D, Sztajzel J, Sievert K, Landis T, Sztajzel R. Usefulness of Ambulatory 7-Day ECG Monitoring for the Detection of Atrial Fibrillation and Flutter After Acute Stroke and Transient Ischemic Attack. *Stroke* 2004;35:1647-1651.
- (42) Januzzi JL, Camargo CA, Anwaruddin S, Baggish AL, Chen AA, Krauser DG, Tung R, Cameron R, Nagurney JT, Chae CU, Lloyd-Jones DM, Brown DF, Foran-Melanson S, Sluss PM, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski KB. The N-terminal proBNP investigation of dyspnea in the emergency department (PRIDE) study. *Am J Cardiol* 2005;95:948-954.

- (43) Jensen JK, Mickley H, Bak S, Korsholm L, Kristensen SR: Serial measurements of N-terminal pro-brain natriuretic peptide after acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2006;22:439-444.
- (44) Keilbach A, Ruth P, Hofmann F. Detection of cGMP dependent protein kinase isozymes by specific antibodies. *Eur J Biochem* 1992;208:467-483.
- (45) Koenig MA, Puttgen HA, Prabhakaran V, Reich D, Stevens RD: B-type natriuretic peptide as a marker for heart failure in patients with acute stroke. *Intensive Care Med*. 2007;33:1587-1593.
- (46) Lam CS, Burnett JC Jr, Costello-Boerrigter L, Rodeheffer RJ, Redfield MM. Alternate circulating pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide forms in the general population. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1193-1202.
- (47) Laragh JH. Atrial natriuretic hormone, the rennin-aldosterone axis and blood pressure-electrolyte homeostasis. *N Engl J Med* 1985;313:1330-1340.
- (48) Letsas KP, Fillipatos GS, Pappas LK, Mihas CC, Markou V, Alexanian IP, Efremidis M, Sideris A, Maisel AS, Kardaras F. Determinants of plasma NT-pro-BNP levels in patients with atrial fibrillation and preserved left ventricular ejection fraction. *Clin Res Cardiol*. 2009;98:101-106.

- (49) Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med* 1998;339:321-328.
- (50) Li J, Wang L. B-type natriuretic peptide levels in patients with paroxysmal lone atrial fibrillation. *Heart Vessels*. 2006;21:137-140.
- (51) Liao J, Khalid Z, Scallan C, Morillo C, O'Donnell M: Noninvasive cardiac monitoring for detecting paroxysmal atrial fibrillation or flutter after acute ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2007;38:2935-2940.
- (52) Luchner , Stevens TL, Borgerson DD, Redfield M, Wei CM, Porter JG, Burnett JC Jr. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol* 1998;274:H1684-1689.
- (53) Mäkitallio AM, Mäkitallio TH, Korpelainen JT, Vuolteenaho O, Tapanainen JM, Ylitalo K, Sotaniemi KA, Huikuri HV, Myllylä VV: Natriuretic peptides and mortality after stroke. *Stroke* 2005;36:1016-1020.
- (54) Mamoru T, Muraki M, Uemura K and Yamasaki K. Plasma Concentrations of Brain Natriuretic Peptide in patients with Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke* 1998;29:1584-1587.

- (55) Marcovina SM, Crea F, Davignon J, Kaski JC, Koenig W, Landmesser U, Pieri PL, Schulz-Menger J, Shaw LJ, Sobesky J. Biochemical and bioimaging markers for risk assessment and diagnosis in major cardiovascular diseases: a road to integration of complementary diagnostic tools. *J Intern Med* 2007;261:214-234
- (56) Marini C, De SF, Sacco S, Russo T, Olivieri L, Totaro R, Carolei A. Contribution of atrial fibrillation to incidence and outcome of ischemic stroke: results from a population-based study. *Stroke* 2005;36:1115–1119
- (57) Mas JL. Cardiopathies associated with a low embolic risk. *Rev Neurol* 1999;155:677-683.
- (58) McGrath MF, de Bold AJ. Determinants of natriuretic peptide gene expression. *Peptides* 2005;26:933-43.
- (59) McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. The natural history of congestive heart failure: the Framingham study. *N Engl J Med* 1971;285:1441-1446.
- (60) Minamimo N, Aburaya M, Ueda S, Kangawa K, Matsuo H. The presence of brain natriuretic peptide of 12,00 daltons in porcine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;155:740-746.

- (61) Montaner J, Perea-Gainza M, Delgado P, Ribó M, Chacón P, Rosell A, Quintana M, Palacios ME, Molina C and Alvarez-Sabín J. Etiologic Diagnosis of Ischemic Stroke Subtypes with Plasma Biomarkers. *Stroke* 2008;39;2280-2287.
- (62) Morais J, Osterspey A, Tamargo JL, Zamorano JL, Despres C, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Blanc JJ, Budaj A, Camm J, Dean V, Deckers JW, Riegel, ESC COMMITTEE FOR PRACTICE GUIDELINES, Priori SG, Hunt SA, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Cynthia B, Adams D, Anderson JL, Antman EM, Halperin JL, Wann, ACC/AHA TASK FORCE MEMBERS, Smith SC, Jacobs AK, Lowe JE, Olsson SB, Prystowsky EN, Tamargo JL, Kenneth S, Ellenbogen A, Halperin JL, Le Heuzey JY, Kay GN. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the Management of Patients with AF. *Circulation* 2006;114:e257-e354
- (63) Mukoyama M, Nakao K, Saito Y, Ogawa Y, Hosoda K, Suga S, Shirakami G, Jougasaki M, Imura H. Human brain natriuretic peptide, a novel cardiac hormone. *Lancet* 1990;335:801-802.
- (64) Nakagawa K, Yamaguchi T, Seida M, Yamada S, Imae S, Tanaka Y, Yamamoto K, Ohno K: Plasma concentrations of brain natriuretic peptide in patients with acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2005;19:157-164.

- (65) Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens* 1992;10:1111-1114.
- (66) Naya T, Yukiiri K, Hosomi N, Takahashi T, Ohkita H, Mukai M, Koziol JA, Kohno M. Brain natriuretic peptide as a surrogate marker for cardioembolic stroke with paroxysmal atrial fibrillation. *Cerebrovasc Dis* 2008;26:434-440.
- (67) O'Donnell M, Oczkowski W, Fang J, Kearon C, Silva J, Bradley C, Guyatt G, Gould L, D'Uva C, Kapral M, Silver F; Investigators of the Registry of the Canadian Stroke Network. Preadmission antithrombotic treatment and stroke severity in patients with atrial fibrillation and acute ischaemic stroke: an observational study. *Lancet Neurol* 2006;5:749-754.
- (68) Ogawa Y, Tamura N, Chushi H, Nakao K. Brain natriuretic peptide appears to act locally as an antifibrotic factor in the heart. *Can J Physiol Pharmacol* 2001;79:723-729.
- (69) Ohta Y, Shimada T, Yoshitomi H, Inoue S, Murakami Y, Shimizu H, Nakamura K, Ohta T, Katoh H, Ishibashi Y. Drop in plasma brain natriuretic peptide levels after successful direct current cardioversion in chronic atrial fibrillation. *Can J Cardiol* 2001;17:415–420

- (70) Oppenheimer S. Cerebrogenic cardiac arrhythmias: cortical lateralization and clinical significance. Clin Auton Res 2006;16:6-11.
- (71) Pineas R, Crow R, Blackburn H. The Minnesota Code Manual of Electrocardiographic Findings. John Wright-PSG, Inc. Littleton, MA, June 1982.
- (72) Pongratz G, Brandt-Pohlmann M, Henneke KH, ohle C, Zink D, Gehling G, Bachmann K. Platelet activation in embolic and preembolic status of patients with nonrheumatic atrial fibrillation. Chest 1997;111:929-933.
- (73) Poyee P. Tung, Elise Olmsted, Alexander Kopelnik, Nader M. Banki, Barbara J. Drew, Nerissa Ko, Michael T. Lawton, Wade Smith, Elyse Foster, William L. Young and Jonathan G. Zaroff. Plasma B-Type Natriuretic Peptide Levels Are Associated With Early Cardiac Dysfunction After Subarachnoid Hemorrhage. Stroke 2005;36:1567-1569;
- (74) Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, Simonsen S, Bjørnerheim R, Endresen K, Hall C. Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis. Am Heart J 2001;142:725-732.

- (75) Ramirez-Lassepas M, Cipolle RJ, Bjork RJ, Kowitz J, Snyder BD, Weber JC, Stein SD. Can embolic stroke be diagnosed on the basis of neurologic clinical criteria? Arch Neurol 1987;44:87-89.
- (76) Reinhart K, Meisner M, Brunkhorst FM. Markers for sepsis diagnosis: what is useful? Crit Care Clin 2006;22:503-519.
- (77) Richards M, Nicholls MG, Espiner EA, Lainchbury JG, Troughton RW, Elliott J, Frampton CM, Crozier IG, Yandle TG, Doughty R, MacMahon S, Sharpe N; Christchurch Cardioendocrine Research Group; Australia-New Zealand Heart Failure Group. Comparison of B-type natriuretic peptides for assessment of cardiac function and prognosis in stable ischemic heart disease. J Am Cardiol 2006;47:52-60.
- (78) Rose R, Giles W. Natriuretic peptide C receptor signaling in the heart and vasculature. J Physiol 2008;586:353-366.
- (79) Rudehill A, Olsson GL, Sundqvist K. ECG abnormalities in patients with subarachnoid haemorrhage and intracranial tumors. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1987;50:1375-1381.
- (80) Ryder KM and Benjamim EJ. Epidemiology and significance of atrial fibrillation. AM J Cardiol 1999;84:131-138.

- (81) Sacco RL, Ellenberg JH, Mohr JP, Tatemichi TK, Hier DB, Price TR, Wolf PA. Infarcts of undetermined cause: the NINCDS Stroke Data Bank. *Ann Neurol* 1989;25:382-390.
- (82) Sandercock PA, Warlow CP, Jones LN, Starkey IR. Predisposing factors for cerebral infarction: the Oxfordshire community stroke project. *Br Med J* 1989; 298:75-80.
- (83) Saper CB, Kibbe MR, Hurley KM, Spencer S. Brain natriuretic peptide-like immunoreactive innervation of the cerebrovascular system in the rat. *Stroke* 1990;21(11 Suppl):III166-167.
- (84) Sawada Y, Suda M, Yokoyama H, Kanda T, Sakamaki T, Tanaka S, Nagai R, Abe S, Takeuchi T. Stretch-induced hypertrophic growth of cardiocytes and processing of brain α -type natriuretic peptide are controlled by proprotein-processing endoprotease furin. *J Biol Chem* 1997;272:20545-20554.
- (85) Saxonhouse SJ, Curtis AB. Risks and benefits of rate control versus maintenance of sinus rhythm. *Am J Cardiol* 2003; 91: 27-32.

- (86) Schaer B, Sticherling C, Lyrer P, Osswald S. Cardiological diagnostic work-up in stroke patients--a comprehensive study of test results and therapeutic implications. *Eur J Neurol* 2009;16:268-273.
- (87) Sebastiaan F.T.M. de Bruijn, Willem R.P. Agema, Gert Jan Lammers, Ernst E. van der Wall, Ron Wolterbeek, Eduard R. Holman, Edward L.E.M. Bollen and Jeroen J. Bax. Transesophageal Echocardiography Is Superior to Transthoracic Echocardiography in Management of Patients of Any Age With Transient Ischemic Attack or Stroke. *Stroke* 2006;37:2531-2534.
- (88) Shimizu H, Murakami Y, Inoue S, Ohta Y, Nakamura K, Katoh H, Sakne T, Takahashi N, Ohata S, Sugamori T, Ishibashi Y, Shimada T. High plasma brain natriuretic polypeptide level as a marker of risk for thromboembolism in patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Stroke* 2002;33:1005-1010.
- (89) Smith MA, Doliszny KM, Shahar E, McGovern PG, Arnett DK, Luepker RV. Delayed hospital arrival for acute stroke: the Minnesota Stroke Survey. *Ann Intern Med* 1998; 129: 190–196.
- (90) Somody E, Delay M, Rouesnel PH, Galley D, Cosnay P, Arquizan C, Mas JL, Kacet S, Le Heuzey JY. Clinical evolution of patients following investigation of atrial vulnerability after a first cerebral ischaemic accident. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2006;99:221-229.

- (91) Sorescu D, Turk RJ, Cain M, Lerakis S. Clinical and transthoracic echocardiographic predictors of abnormal transesophageal findings in patients with suspected cardiac source of embolism. *Am J Med Sci* 2003;326:31-34.
- (92) Stollberger C, Chnupa P, Kronik G, Brainin M, Finsterer J, Schneider D et al. Transesophageal echocardiography to assess embolic risk in patients with atrial fibrillation. ELAT Study Group. Embolism in Left Atrial Thrombi. *Ann Intern Med* 1998;128:630-638.
- (93) Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332:78-81.
- (94) Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168:863-870.
- (95) Sutton TM, Stewart RA, Gerber IL, West TM, Richards AM, Yandle TG, Kerr AJ. Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation. *J AM Coll Cardiol* 2003;41:2280-2287.

- (96) Sviri GE, Feinsod M, Soustiel F. Brain Natriuretic Peptide and Cerebral Vasospasm in Subarachnoid Hemorrhage: Clinical and TCD Correlations. *Stroke* 2000;31:118-122.
- (97) Tayal AH, Tian M, Kelly KM, Jones SC, Wright DG, Singh D, Jarouse J. Atrial fibrillation detected by mobile cardiac outpatient telemetry in cryptogenic TIA or stroke. *Neurology* 2008;71;1696-1701.
- (98) The Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators: Predictors of thromboembolism in atrial fibrillation: 11. Echocardiographic features of patients at risk. *Ann Inter Med* 1992; 116:6-12.
- (99) Tomita H, Metoki N, Saitoh G, Ashitate T, Echizen T, Katoh C, Fukuda M, Yasujima M, Osanai T, Okumura K. Elevated plasma brain natriuretic peptide levels independent of heart disease in acute ischemic stroke: correlation with stroke severity. *Hypertens Res* 2008;31:1695-702.
- (100) Tremblay J, Desjardins R, Hum D, Gutkowska J, Hamet P. Biochemistry and physiology of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclases. *Mol Cell Biochem* 2002; 230:31-47.
- (101) Tsuchida K, Tanabe K. Influence of paroxysmal atrial fibrillation attack on brain natriuretic peptide secretion. *J Cardiol* 2004;44:1-11.

- (102) Tsutamoto T, Wada A, Sakai H, Ishikawa C, Tanaka T, Hayashi M, Fujii M, Yamamoto T, Dohke T, Ohnishi M, Takashima H, Kinoshita M, Horie M. Relationship between renal function and plasma brain natriuretic peptide in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:582-586.
- (103) Tuinenburg AE, Brundel BJ, Van Gelder IC, Henning RH, Van Den Berg MP, Driessen C, Grandjean JG, Van Gilst WH, Crjins HJ. Gene expression of the natriuretic peptide system in atrial tissue of patients with paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999;10:827-835.
- (104) Valli N, Gobinet A, Bordenave L. Review of 10 years of the clinical use of brain natriuretic peptide in cardiology. *J Lab Clin Med* 1999;143:437-444.
- (105) Wallmann D, Tuller D, Wustmann K, Meier P, Isenegger J, Arnold M, Mattle HP, Delacrétaz E. Frequent atrial premature beats predict paroxysmal atrial fibrillation in stroke patients. An opportunity for a new diagnostic strategy. *Stroke* 2007;38:2292-2294.
- (106) Walther T, Klostermann K, Heringer-Walther S, Schultheiss HP, Tschöpe C, Stepan H. Fibrosis rather than blood pressure determines cardiac BNP expression in mice. *Regul Pept* 2003;116:95-100.

- (107) Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, Sutherland P, Omland T, Vasan RS. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *AM J Cardiol* 2002;90:254-258.
- (108) Weir NU. An update on cardioembolic stroke. *Postgrad Med J*. 2008;84:133-142
- (109) Whiteley W, Tseng MC, Sandercock P. Blood biomarkers in the diagnosis of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2008;39:2902-2909.
- (110) Wijdicks EFM, Schievink WI, Burnett JC Jr. Natriuretic peptide system and endothelin in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurgery* 1997;87:275-280.
- (111) Wolber T, Maeder M, Atefy R, Bluzaitė I, Blank R, Rickli H, Ammann P. Should routine echocardiography be performed in all patients with stroke? *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2007;16:1-7.
- (112) World Health Organization. World Health Report 2002. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.

- (113) Yamamoto K, Burnett JC, Redfield MM. Effect of endogenous natriuretic peptide system on ventricular and coronary function in failing heart. *Am J Physiol* 1997;273:H2406-H2414.
- (114) Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:8525-8529.
- (115) Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M, Ogawa H, Okumura K, Mukoyama M, Nakao K. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation*. 1994;90:195-203.
- (116) Yip HK, Sun CK, Chang LT, Chen MC, Liou CW: Time course and prognostic value of plasma levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients after ischemic stroke. *Circ J* 2006;70:447-452.
- (117) Yoshimura M, yasue H, Okumura K, et al. Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in congestive heart failure. *Circulation* 1993;87:464-469.